

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Gaston DASTUGUE

Professeur suppléant de Physiologie à l'Université de Clermont-Ferrand

**1^{re} THÈSE. — Etude critique et expérimentale du dosage
de l'Acétylcholine par les méthodes biologiques.**

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Mars 1940, devant la Commission d'examen

MM. CARDOT.....	<i>Président.</i>
FROMAGEOT.....	{ <i>Examineurs.</i>
KUHNER.....	

LIBRAIRIE MALOINE
PARIS

—
1940

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS-SCIENCES NATURELLES

PAR

Gaston DASTUGUE

Professeur suppléant de Physiologie à l'Université de Clermont-Ferrand

1^{re} THÈSE. — Etude critique et expérimentale du dosage
de l'Acétylcholine par les méthodes biologiques.

2^e THÈSE. — Propositions données par la Faculté.

Soutenues le Mars 1940, devant la Commission d'examen

MM. CARDOT..... *Président.*

FROMAGEOT.

KUHNER.....

Examineurs.

LIBRAIRIE MALOINE

PARIS

1940

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DOUIN, *, †, ‡ I.

Assesseur

M. CARDOT, *, ‡ I.

Doyen honoraire

M. LONGCHAMBON, *, †, ‡ I, ✕.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, C. *, ‡ I
~~SIRE, *, ‡ I, ✕.~~
RIGOLLOT, *, ‡ I.
COUTURIER, *, ‡ I, ✕.
DULAC, *, ‡ I.
VANEY, *, ‡ I, ✕.
ROMAN, *, ‡ I.

Professeurs

MM. MEUNIER, O. *, ‡ I, *Chimie industrielle.*
CARDOT, *, ‡ I, *Physiologie générale.*
LOCQUIN, *, ‡ I, *Chimie générale.*
LONGCHAMBON, *, †, ‡ I, ✕, *Minéralogie.*
DOUIN, *, †, ‡ I, *Botanique.*
DÉJARDIN, *, ‡ I, *Physique générale.*
SOLLAUD, ‡ I, *Zoologie.*
THIBAUD, ‡ A., *Physique expérimentale.*
LEMARCHANDS, *, ‡ I, *Chimie minérale.*
EYRAUD, ‡ I, *Calcul différentiel et intégral.*
THORAL, *Géologie.*
FROMAGEOT, ‡ I, *Chimie biologique.*
AUMÉRAS, ‡ I, *Chimie physique.*

Sire



Maîtres de conférences et chargés de cours

- MM. DŒUVRE, ☼ I., *Chimie organique*.
PRETTRE, *Chimie minérale*.
KÜHNER, *Botanique*.
M^{me} DUBREIL-JACOTIN, *Mathématiques*.
MM. BERNARD, *Zoologie*.
LAVAL, *Minéralogie*.

Maître de conférences adjoint

- M. BONNET, ✱, ☼ I., *Zoologie générale et agricole*.

Chargés de cours complémentaires

- M^{lle} BACHRACH, ☼ I., *Physiologie*.
MM. DUFAY, *Astronomie et Physique supérieure*.
VIRET, ✱ I., *Etude des roches*.
RANSON, *Géométrie supérieure*.
TRONCHET, ☼, *Botanique*.
MAYET, ✱, ☼ I., ✱, *Anthropologie*.
PELOSSE, ☼ I., *Sériciculture*.
DARESTE DE LA CHAVANNE, ☼ I., *Géographie physique*.
SEYEWETZ, ✱, ☼ I., *Matières colorantes artificielles*.
COLONGE, ☼ A., *Chimie générale*.

Secrétaire

- M. ROUX, ☼ A.
-

INTRODUCTION

Certes, et LAPICQUE le rappelait récemment, on ne saurait faire état des remarquables découvertes, ayant à leur origine les travaux de LÆWI et de DALE sur les fonctions de l'acétylcholine considérée comme médiateur chimique, pour faire jouer à cette substance un rôle d'omnivalence susceptible d'être évoqué chaque fois que l'on a à expliquer, à une étape ou un relais quelconques, la transmission d'un influx nerveux.

Cependant, l'acétylcholine, intermédiaire chimique, à tout le moins, des neurones préganglionnaires de l'ensemble du système nerveux autonome et des neurones postganglionnaires parasympathiques, a pris rang d'une façon qui semble bien définitive parmi ces substances que l'on peut qualifier de physiologiques et qui font à l'état normal, partie intégrante de nos humeurs.

Notre intention n'est d'ailleurs pas, en aucune façon, de rappeler le rôle biologique joué par l'acétylcholine. C'est là, à l'heure actuelle, une question de physiologie déjà classique, encore qu'incomplète et sur laquelle les mémoires et les thèses ne manquent point. Nous voudrions simplement insister sur le fait que les découvertes, auxquelles nous faisons allusion plus haut, n'ont été

rendues possibles que parce que les pharmacodynamistes, auteurs de ces conceptions initiales, avaient à leur disposition des réactifs biologiques extraordinairement sensibles qui leur ont permis de mettre en évidence la présence de l'intermédiaire chimique partout où la théorie permettait de le prévoir.

Nous avons donc pensé qu'il y aurait peut-être intérêt à revenir sur ce problème du dosage biologique de l'acétylcholine qui conditionne dans une certaine mesure les progrès à réaliser, de même qu'il a permis d'aboutir aux découvertes déjà établies, et à présenter l'ensemble des constatations qu'il nous a été donné personnellement de faire à ce sujet au cours de ces quatre dernières années.

Dans une première partie, d'ordre purement bibliographique, seront brièvement énumérées les principales méthodes biologiques de dosage de l'acétylcholine.

Dans une seconde partie, d'ordre surtout expérimental, seront exposées les recherches que j'ai entreprises, — certaines avec l'aide de mes élèves, — au laboratoire de Monsieur le Professeur DODEL, sur la *sensibilité* du muscle de sangsue à d'autres substances que l'acétylcholine et sa *sensibilisation* par d'autres substances que l'éserine, en particulier la dihydrooxycodéinone (eucodal).

Je ne saurais terminer cette introduction sans présenter mes respectueux remerciements à Monsieur le Professeur CARDOT, président, et à Messieurs les Professeurs FROMAGEOT et KUHNER, membres de mon Jury de thèse, pour leur grande obligeance à mon égard ; à tous les Maîtres éminents dont j'ai suivi l'enseignement ou qui m'ont accueilli dans leur laboratoire et dont quelques-uns même veulent bien m'honorer de leur amitié : Messieurs les Professeurs L. BINET, R. COMBES, R. FABRE, J. GAUTRELET, L. LAPICQUE, H. LAUGIER, M. MOLLIARD, J.

RÉGNIER, C. SOULA ; à Monsieur le Professeur CASTAIGNE qui s'est plu à m'apporter, de façon constante, l'appui de sa bonté agissante et de sa haute autorité ; à Madame BLANQUET qui m'a appelé si souvent à collaborer au double labeur d'ordre scientifique et professionnel auquel elle consacre toute son activité ; à tous les Professeurs de l'Ecole de plein exercice de Médecine et de Pharmacie de l'Université de Clermont.

Est-il besoin d'exprimer à mon Maître, Monsieur le Professeur P. DODEL, l'amitié déférente et la reconnaissante fierté de son ancien élève dont il a fait, depuis bientôt huit ans, son collaborateur de tous les jours et de présenter à Monsieur le Professeur J. RÉGNIER, les sentiments de profonde gratitude que lui doit un de ses disciples lointains.

Qu'il me soit permis également d'assurer de mon dévouement tous mes élèves, plus spécialement mes internes de l'Hôtel-Dieu et mes collaborateurs du laboratoire de physiologie et d'évoquer, à côté de cette grande famille, le cercle plus restreint de mon propre foyer et celle qui en est l'âme.

Enfin, je voudrais que la soutenance de cette thèse, présentée dans des circonstances douloureuses où les destinées individuelles deviennent incertaines, puisse être considérée comme un acte de foi dans celles immuables de la Patrie.

PREMIÈRE PARTIE

LES MÉTHODES
DE DOSAGE BIOLOGIQUE
DE L'ACÉTYLCHOLINE

Suivant la classification adoptée par DALE, dès 1914, l'acétylcholine est douée de propriétés à types muscarinique et nicotinique.

Au type muscarinique, il faut rattacher son action de ralentissement sur le cœur dont, en même temps, elle diminue l'amplitude tandjs qu'elle abaisse la pression artérielle. Cette action, qui est déterminée par de faibles doses d'acétylcholine, est abolié par l'atropine. De même, elle augmente le tonus de l'intestin et celui de l'utérus, effet qui est également empêché par l'atropinisation.

Au type nicotinique, il faut rattacher sa propriété de provoquer la contracture du muscle volontaire énérvé des mammifères, du muscle droit de l'abdomen de la grenouille et du muscle de sangsue énérvé.

Telles sont les diverses propriétés qui ont été mises à profit par les auteurs pour mettre au point une méthode de dosage biologique de l'acétylcholine, aucune méthode chimique n'étant assez sensible pour être appliquée avec succès à l'étude des doses d'acétylcholine mises en jeu dans la transmission de l'influx nerveux.

Pression sanguine

HUNT et DE TAVEAU (1906) ont montré l'action très marquée de l'acétylcholine sur la pression artérielle carotidienne ou fémorale, action qui est de 1.000 à 10.000 fois plus intense que celle de la choline.

Divers animaux ont été proposés : le chat (DALE, 1914 ; HUNT, 1918 ; FLEISCH, 1931 ; SIMONART, 1932), le lapin (HUNT et DE TAVEAU, 1906 ; EULER et GADDUM, 1931), le chien (J. LÉVY et L. OLSZYCKA).

En injection intraveineuse, l'acétylcholine produit une hypotension prolongée à la dose de 2/1.000^e et même de 1/1.000 mg par kg chez le chat ; à la dose de 5/100 mg par kg chez le lapin ; à la dose de 1/100 mg par kg chez le chien.

Le *chat* serait donc l'animal le plus sensible et l'emploi du chat anesthésié (éther ou barbituriques), dont la pression artérielle reste élevée, paraît avoir la préférence. L'acétylcholine est injectée dans la veine jugulaire ou dans la fémorale en solution dans un volume toujours égal de sérum physiologique (1 cm³). Les injections doivent être effectuées à intervalles réguliers (toutes les cinq minutes) avec la même vitesse (15 secondes).

Après avoir déterminé la dose d'acétylcholine (0,2 à 1 γ pour un chat de 3 à 4 kg) qui provoque une hypotension faible mais nette, et l'avoir réinjectée plusieurs fois de suite jusqu'à ce qu'elle produise toujours le même effet, on peut commencer le dosage proprement dit, en ayant soin de toujours intercaler une injection de produit à doser entre deux injections d'étalon. D'après LE HEUX (1927), l'erreur maximum est d'environ 15 p. 100.

La substance P, de EULER et GADDUM, présente dans les extraits de tissus, suffit à elle seule à influencer la pression artérielle du *lapin*.

Par contre, J. LÉVY et L. OLSZYCKA augmentant la sensibilité du chien (chloralosé) par injection préalable de sulfate d'ésérine (0,1 mg), observent l'action fugace, mais très constante de très faibles doses d'acétylcholine et par cette méthode, arrivent à caractériser des quantités de 0,05 à 1 γ de cette substance.

La sensibilité du chien à l'acétylcholine ne doit être éprouvée que dix à quinze minutes après l'injection d'ésérine, lorsque l'effet vagal de cette dernière substance s'est atténué.

Cœur isolé

L'effet inhibiteur de l'acétylcholine sur *le cœur isolé de grenouille* a été le premier test biologique employé pour sa caractérisation (HUNT et DE TAVEAU, 1906). Par la suite, bien des expérimentateurs l'adoptèrent, notamment FUHNER et LÆWI qui s'en servit pour ses remarquables expériences de transmission humorale de l'effet vagal.

La technique la plus courante est celle de STRAUB. Sur une grosse grenouille, dont a détruit l'axe cérébro-spinal, le cœur est mis à nu et l'on introduit dans une aorte une canule spéciale (canule de FUHNER ou de STRAUB) renfermant 1 à 2 cm³ de solution de Ringer. Cette canule est poussée dans le ventricule lors d'une systole et fixée par une ligature. Après avoir lié les aortes et la veine cave, le cœur est isolé par section de ces vaisseaux et maintenu dans une chambre humide. On renouvelle la solution de Ringer jusqu'à ce que le liquide reste absolument clair, et les mouvements de l'organe sont transmis à un myographe léger relié par un fil à la pointe du ventricule.

D'après E. CORTEGGIANI (1938), le cœur de grenouille répond par une réaction inotrope négative dès que l'acétylcholine atteint une concentration de 1.10^{-9} à 1.10^{-8} . Mais cette sensibilité varie largement suivant les préparations, et peut être renforcée par le sulfate d'ésérine à la concentration de 1.10^{-4} (LÆWI et NAVRATIL, 1926) ; l'action inotrope de l'acétylcholine est surtout beaucoup plus prolongée, l'ésérine empêchant la destruction de cette substance par la cholinestérase du cœur. Cette méthode peut permettre une évaluation quantita-

tive de l'acétylcholine avec une approximation de 10 à 20 p. 100 (E. CORTEGGIANI).

Mais il faut tenir compte du fait qu'un très grand nombre de substances présentes dans les extraits de tissus, en particulier de petites quantités d'acides et les ions potassium produisent une action analogue à l'acétylcholine. CHANG et GADDUM (1933) ont signalé également une substance non identifiée qu'ils dénomment substance R et qui a sur le cœur de grenouille une action inotrope négative. D'autre part, les ions Ca^{++} et l'histamine (CLARK, 1913, EGGLETON, 1926) ont une action inotrope positive. Cependant, étant donné que l'atropine supprime les effets de la choline et de ses esters, on pourrait ainsi établir une distinction suffisante. Il serait d'ailleurs utile d'obtenir un contrôle en faisant appel à l'action hydrolysante de la cholinestérase et à l'action sensibilisante de l'ésérine.

Le cœur d'escargot a été utilisé par HALPERN et E. CORTEGGIANI (1935) pour une étude comparative de la destruction estérasique de l'acétylcholine par divers organes de cobaye, de grenouille et d'escargot. La sensibilité du cœur isolé à l'acétylcholine est seulement de 1 p. 20.000 et par suite ce test ne semble pas pouvoir être utilisé de manière générale pour le dosage de l'acétylcholine.

Toutefois, JULLIEN, VINCENT, VUILLET et BOUCHET (1939) ont fait observer que le cœur est nettement plus sensible à l'acétylcholine lorsque la drogue agit par voie interne. A cet effet, le cœur est monté d'après la méthode de STRAUB sur une canule à olive finé et dépolie. On introduit celle-ci par l'oreillette jusque dans le ventricule et l'on fixe le cœur en le ligaturant avec un fil de soie sur le sillon auriculo-ventriculaire ; un autre fil de soie est noué à la pointe du ventricule, à la naissance de l'aorte ; il se trouve également fixé au stylet du myogra-

phe. On sectionne l'oreillette et l'aorte au-delà des ligatures ; mais, pour que le cœur soit étanche, il est nécessaire de superposer aux deux premières ligatures d'autres ligatures avec un fil de gaze. En fin d'expérience, on vérifie l'étanchéité de l'organe au moyen d'une solution d'éosine. On opère sur 1 cm³ de liquide. Dans ces conditions, le premier arrêt du cœur (2 à 3 minutes environ) est obtenu pour une concentration égale à 1 p. 100.000.

D'autre part, et toujours d'après les mêmes auteurs, en milieu ésériné à 1 p. 200.000, on observe un arrêt du cœur pour une concentration d'acétylcholine égale à 1 p. 100.000.000.

En résumé, la méthode de perfusion révèle, même en l'absence d'ésérine, une sensibilité du myocarde à l'acétylcholine bien supérieure à celle qui est communément indiquée et qui résulte de l'application de la drogue sur la face externe de l'organe ; l'ésérine augmente cette sensibilité du cœur d'escargot, et de ce fait, peut être rapprochée l'action potentialisatrice qu'elle exerce sur certains organes mis en contact avec l'acétylcholine comme le muscle dorsal de sangsue ou le muscle droit de grenouille.

Nous-mêmes avons eu l'occasion de revenir sur cette question comme nous l'exposerons par la suite.

Intestin isolé

La technique a été mise au point par GUGGENHEIM et LOFFLER (1916) sur l'intestin isolé de cobaye qui répond par une élévation de tonus à des concentrations d'acétylcholine de l'ordre de 1.10^{-9} . Certains auteurs utilisent l'intestin de lapin ou de rat (BERNHEIM, 1934) dont la sensi-

bilité est légèrement inférieure. KAHLSON (1934) préconise l'utilisation de l'intestin de souris dont la sensibilité spécifique est, d'après cet auteur, plus grande que celle de l'intestin des autres animaux.

L'intestin isolé n'est pas un réactif spécifique de l'acétylcholine ; il existe dans les extraits de tissus de nombreuses substances actives sur l'intestin, en particulier une substance P dont les propriétés ont été décrites par EULER et GADDUM (1931) et qui a une action stimulante, mais à l'encontre de celui de l'acétylcholine cet effet n'est pas inhibé par l'atropine.

Il faut remarquer également que les extraits éserinés ne pourront être dosés en utilisant ce test, car l'ésérine agit elle-même en produisant une hausse de tonus de l'intestin. Ce phénomène serait dû, selon MATTHES (1930), à la potentialisation de l'acétylcholine que l'intestin contient normalement en assez forte proportion. Nous aurons l'occasion de revenir sur ce point particulier au cours de l'exposé de nos recherches.

Tandis que PAGE et SCHMIDT (1930) et KAHLSON (1934) vantent la spécificité de l'intestin de souris pour l'acétylcholine, Jeanne LÉVY et E. MICHEL (1937) préfèrent utiliser pour le dosage biologique, l'intestin de rat et plus particulièrement le duodénum ; le péristaltisme de l'intestin de lapin leur paraît trop accentué pour permettre le dosage précis de l'acétylcholine ; l'intestin de cobaye utilisé par GUGGENHEIM et LOFFLER (1916), ABDERHALDEN et PAFFRATH (1925) leur paraît trop sensible à l'histamine qui accompagne si souvent l'acétylcholine dans les extraits de sang et de tissus.

La technique du dosage sur l'intestin isolé est basée sur les principes habituels : détermination d'une dose régulièrement active d'acétylcholine, répétition de cette dose quatre à cinq fois jusqu'à l'obtention d'effets cons-

lants, recherche de la concentration de la solution de titre inconnu capable de provoquer une action identique, chaque dose de la solution à titrer, étant administrée entre deux doses d'étalon ; après chaque administration d'acétylcholine, lavage automatique de l'intestin avec un volume de Tyrode égal à quatre ou cinq fois le volume du Tyrode dans lequel il est plongé ; repos après chaque lavage, jusqu'à ce que le tonus intestinal soit revenu à son taux initial.

D'autre part, BERNHEIM (1934) qui a examiné sur l'intestin de rat l'inter réaction de l'acétylcholine et de l'adrénaline, a montré que cet antagonisme est quantitatif et peut servir de test pour le dosage de l'acétylcholine.

Utérus isolé

Après les travaux de FUHNER (1916) soulignant l'action contracturante de l'acétylcholine sur l'utérus de cobaye, WEBSTER (1933) a préconisé l'emploi de ce réactif biologique pour le dosage de l'acétylcholine.

L'une des cornes utérines, prélevée sur un cobaye vierge, est fixée au myographe à la manière de l'intestin isolé et maintenue à 37° dans un bain de Tyrode oxygéné. L'utérus répond par une contraction lorsque la concentration du bain en acétylcholine atteint 1.10^{-6} à 1.10^{-7} ; cet effet est inhibé par le sulfate d'atropine à concentration équivalente. Mais on doit remarquer que nombre de substances provoquent à concentration faible la contraction de l'utérus, en particulier l'histamine (2.10^{-7} à 1.10^{-8}) dont l'action est également supprimée par l'atropine (FELDBERG, 1933).

Muscle gastrocnémien énervé de chat

Les muscles de mammifères deviennent sensibles à l'acétylcholine après dégénérescence des nerfs moteurs, ainsi que l'ont montré FRANCK (1920), FRANCK, NOTHMANN et HIRSCH-KAUFFMANN (1923), DALE et GASSER (1926).

On sectionne aseptiquement le sciatique du chat une semaine avant l'utilisation. Le chat ainsi préparé est anesthésié au chloralose et soumis à la respiration artificielle. Les dernières artères lombaires et les branches inférieures de l'aorte sont liées, excepté les deux artères iliaques externes. Le gastrocnémien est libéré, l'artère fémorale étant liée immédiatement au-dessous, et fixé à un myographe isométrique. Une solution de Ringer chaud arrose continuellement le muscle. L'ésérine (0,2 mg) est injectée dans la veine pour accroître la sensibilité et l'atropine (0,2 mg) est injectée par voie sous-cutanée pour abolir les effets vaso-moteurs de l'acétylcholine.

Les extraits dont on doit déterminer la teneur en acétylcholine, ainsi que les solutions étalons, sont injectés dans le bout central de l'artère iliaque externe de la patte normale, à l'aide d'une canule spéciale. Dans ces conditions, des doses de 0,1 à 0,2 γ d'acétylcholine produisent des réactions appréciables. Cette préparation est sensible et spécifique vis-à-vis de l'acétylcholine, mais elle est laborieuse et relativement peu employée.

Muscle rectus abdominalis de grenouille

C'est à CHANG et GADDUM (1933) que l'on doit l'application pratique du fait signalé par RIESSER (1921), montrant l'effet contracturant de l'acétylcholine sur ce muscle isolé.

La préparation consiste à isoler le muscle qui est ensuite fixé, à la manière de l'intestin en survie à un myographe et plongé dans un bain de Ringer. Après repos, on sensibilise à l'ésérine à la concentration de 10^{-5} . Les quantités utilisées pour le dosage sont légèrement supérieures à la dose seuil et laissées en contact avec la préparation pendant un temps bien déterminé (2 à 3 minutes). Les réponses dans ces conditions sont tout à fait constantes et permettent d'apprécier à 10 ou 20 p. 100 près, des concentrations d'acétylcholine de 10^{-7} . Le muscle de *Rana temporaria* est légèrement moins sensible que celui de *Rana esculenta*. (CHANG et GADDUM).

La spécificité de la réaction est bonne. Le potassium a une légère action contracturante, mais cette action est plus lente que celle de l'acétylcholine et souvent précédée d'un petit crochet (E. CORTEGGIANI, 1938). La choline n'agit qu'à des concentrations beaucoup plus élevées que l'acétylcholine (1.10^{-4}) ; de plus, les actions du potassium et de la choline ne sont pas sensibilisées par l'ésérine. L'histamine, l'adénosine, le calcium et les substances P et R (extraites par EULER et GADDUM de certains organes et contractant l'intestin isolé, inhibant le cœur) ajoutées même à forte dose, n'ont pas d'action sur la préparation.

La sensibilisation du *rectus abdominalis* de grenouille, par l'ésérine, n'est d'ailleurs pas comparable du point de vue quantitatif à celle du muscle de sangsue ; en

effet, celui-ci après action de l'ésérine devient sensible à des doses cent à mille fois plus faibles d'acétylcholine, tandis que dans les meilleures conditions, celui-là est seulement 3 à 8 fois plus sensible après action de l'ésérine que le muscle normal.

D'autre part, BACQ, KAHANE et LÉVY insistent sur le fait que la sensibilisation est d'autant plus grande que le muscle est immergé depuis longtemps dans le Ringer ésériné.

Notons également, le *gastrocnémien de crapaud* préconisé par RIESSER (1921); le *muscle de l'abdomen du crapaud* (CHANG, 1933); la bourse du pénis et le *flagelle de l'escargot* (KOSCHTOJANZ, 1936).

BACQ (1939) a tenté d'utiliser pour la caractérisation de l'acétylcholine, le muscle longitudinal d'*Holothuria stellata* sensible, après immersion dans du Ringer ésériné, à 10^{-9} g d'acétylcholine. Mais l'ésérine sensibilise également ce muscle à l'histamine, à la tyramine, à la choline et aux sels de potassium, aussi BACQ conseille-t-il de n'utiliser ce test que lorsque le dosage ne peut s'effectuer que dans l'eau de mer.

Muscle dorsal de sangsue

La très grande sensibilité du muscle de sangsue ésériné à l'acétylcholine a été observée pour la première fois par FUHNER (1918). Mettant à profit cette sensibilité exceptionnelle, MINZ (1932) a préconisé une technique de dosage biologique de l'acétylcholine qui est certainement la plus utilisée, et sur laquelle nous allons nous étendre longuement.

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES
SUR LE DOSAGE BIOLOGIQUE
DE L'ACÉTYLCHOLINE

CHAPITRE I

La sensibilité de la préparation de sangsue à d'autres drogues que l'acétylcholine

La première question que nous nous poserons au seuil de cette seconde partie est celle de savoir dans quelle mesure la préparation de sangsue est sensible aux substances autres que l'acétylcholine.

Il faut en effet remarquer ici que l'expression « théorie neuro-humorale » qui est couramment appliquée à l'ensemble des phénomènes concernant la transmission de l'influx nerveux par intermédiaire chimique d'un neurone à un autre neurone peut prêter facilement à erreur.

En fait, il ne s'agit nullement d'une action à distance analogue à celle que le médecin est habitué à con-

cevoir comme; par exemple, l'action gonadotrope des prolans, mais bien de la production *in situ* de l'intermédiaire chimique, production étroitement localisée au niveau même de la sinapse ganglionnaire ou neuromusculaire.

La présence de l'intermédiaire chimique dans le sang n'est donc, de ce point de vue, qu'un phénomène contingent, dont les premiers auteurs n'avaient guère à tenir compte, et c'est pourquoi ils ont à peu près uniquement effectué leurs recherches sur des liquides de perfusion d'organes.

Néanmoins, il importait de savoir si oui ou non il y avait diffusion dans la circulation générale de l'intermédiaire chimique et de procéder éventuellement à son dosage, aussi bien chez l'homme que chez l'animal ; aussi bien à l'état normal que dans les états pathologiques ; à l'état de repos ou au cours du fonctionnement de certains organes.

Mais pour pouvoir entreprendre une telle étude dans de bonnes conditions, il était nécessaire de connaître les réactions du muscle vis-à-vis des substances complexes que l'apport sanguin allait mettre à son contact.

Or, si ces réactions sont déjà connues dans un grand nombre de cas, il en est d'autres qui restent à établir.

Nous avons donc pensé qu'il y aurait intérêt à reprendre la question dans son ensemble et nous avons expérimenté sur la préparation de sangsue une centaine de substances, tandis que nous recherchions également l'action directe sur le muscle, de sang prélevé dans des conditions telles qu'on pouvait le considérer comme ne renfermant pas d'acétylcholine. C'est dans la documentation ainsi établie que nous avons puisé pour établir ce travail que nous diviserons en deux parties :

La première consacrée à l'action d'un certain nombre de facteurs physiques et chimiques.

La seconde plus spécialement réservée à l'action du sang lui-même sur le muscle de sangsue.

Nous noterons au fur et à mesure les résultats analogues obtenus par les auteurs, — dont certains identiques et postérieurs (H. BUSQUET, D. VINCENT) ont confirmé les nôtres — et nous nous efforcerons d'en déduire, en plus des conclusions d'ordre théorique, quelques déductions pratiques susceptibles de s'appliquer au dosage biologique de l'acétylcholine elle-même.

Technique

La sangsue placée sur sa face dorsale est fixée par quelques épingles sur une planchette de liège. Deux coups de ciseaux partant des commissures labiales partagent la sangsue en deux portions ventrale et dorsale. Seule la partie antérieure de celle-ci est conservée, car l'expérience a montré (KAHLSON et UVNAS, 1935) que le segment dorsal antérieur est le plus sensible à l'acétylcholine. La chaîne nerveuse et les viscères ont disparu avec l'enlèvement de la partie ventrale. On s'assure qu'il n'en reste pas trace. On supprime pour plus de sûreté la tête de l'animal, éliminant ainsi les ganglions cérébroïdes qu'il est délicat d'arracher totalement et le muscle dorsal est suspendu dans une solution de Ringer pour grenouilles, préparée suivant les indications de WACHHÖLDER (1933) avec un pH voisin de 7,1.

Nos expériences ayant eu lieu surtout pendant les jours froids, nous avons utilisé la solution d'hiver : Cl Na 6,27 g ; Cl K 0,154 ; Cl₂ Ca 0,156 ; PO₄ H₃ N/1 1,81 cm³ et CO₃ Na₂ q. s.

FLEISCH, SIBUL et KÄELIN (1936) ont remarqué que la sensibilité des muscles dorsaux des sangsues, atteint

son degré le plus élevé lorsque ce muscle est coupé en deux dans le sens longitudinal. Ils en attribuent la cause à ce que dans ce cas, la vitesse de diffusion et la profondeur de pénétration de l'acétylcholine sont probablement plus grandes.

Les contractions du muscle seront enregistrées grâce à un levier amplificateur sur un cylindre animé d'un mouvement uniforme et très lent. Enfin un courant d'oxygène arrivant bulle à bulle, assure l'aération du milieu. Ce courant d'oxygène est indispensable pour obtenir une sensibilité satisfaisante de la préparation.

Sous l'influence d'un poids convenable, le muscle se détend peu à peu. Au bout d'un certain temps (une heure et demie à deux heures) la trace laissée par le stylet est horizontale et l'expérience peut commencer.

Facteurs physiques

Le muscle de sangsue semble peu sensible à des variations relativement importantes des facteurs physiques. Il paraît indifférent à des changements de *tension osmotique* considérables, de $-0^{\circ},30$ à -2° par exemple.

L'addition aux 20 cm³ du Ringer où baigne la sangsue à la *température* du laboratoire, de 5 cm³ de Ringer à 40° n'a pas d'influence sur le tonus. C'est pourquoi, comme l'avait indiqué Minz, on peut directement faire agir sur le muscle le sang qui s'écoule des organes. L'addition de 5 cm³ de Ringer à 0° a paru également sans effet.

Une réaction alcaline de pH 8,6 nous a été nécessaire pour obtenir une élévation du tonus. De même en sens inverse, un pH de 5,6. Cependant, Louise FRANEL (1935)

a signalé la possibilité de contractions dès que le pH passe au-dessus de 7,0.

Il faut faire une distinction entre variations de tonus sous l'influence des agents physiques et variations de la sensibilité à l'acétylcholine. Au-dessus de 7,4, en effet, celle-ci diminue très notablement.

Telle est l'influence du pH *in vitro*. Mais *in vivo*, d'après les expériences de HANDOWSKY et Sidney FARBER (1936), une réaction ionique de 6,5 — 6,8 serait nécessaire dans un liquide de perfusion d'organe pour obtenir une bonne diffusion de l'acétylcholine au moment de l'excitation des extrémités parasympathiques correspondantes. Cette influence du pH serait en rapport avec l'état d'ionisation de l'acétylcholine dans les cellules, libération et diffusion plus marquées aux pH 6,5 — 7,0, l'acétylcholine étant ionisée, mais beaucoup plus faible aux pH 7,3 — 7,5, l'acétylcholine n'étant plus ionisée.

Facteurs physico-chimiques

En dehors des substances qui, à une dose déterminée, n'ont pas d'action sur le tonus du muscle et des quelques substances qui l'abaissent (fig. 1 en B), nous distinguons :

Celles qui donnent des *contractions rythmées sans élévation du tonus* (fig. 2).

Celles qui donnent une série de *contractions rythmées avec élévation marquée du tonus* (fig. 3).

Et celles qui produisent une *élévation forte et relativement brusque du tonus avec peu ou pas de contractions rythmées* (fig. 1 en A et en C).

Nous donnons, dans la première colonne, la concen-

tration finale de la substance au contact du muscle de sangsue.

Pour les corps trouvés inactifs, il s'agit de doses maxima et pour les autres non pas d'un seuil à proprement parler, mais de la première dose nettement active. Le pH des solutions mères employées figure dans la dernière colonne.

TABLEAU I

Substances inactives

	Concentration	pH
Chlorure de sodium	1/150	7,0
Bromure de sodium	1/250	6,9
Sulfate de sodium	1/100	7,0
Benzoate de sodium	1/100	7,4
Citrate de sodium	1/400	8,4
Bromure de magnésium	1/1.000	> 8,4
Glucose	1/100	7,1
Urée	1/200	7,2
Uréthane	1/350	7,0
Nitrate d'arginine	1/200	< 6,8
Chlorhydrate de créatinine	1/200	< 6,8
Chlorhydrate de morphine	1/1.000	6,8
Phosphate de codéine	1/1.000	< 6,8
Bromhydrate de scopolamine	1/500	6,8
Bi-chlorhydrate d'histamine	1/1.000	< 6,8
Tartrate d'ergotamine	1/7.000	< 6,8
Alcool éthylique	1/10	7,0
Glycérine	1/200	6,9
Tétrachlorure de carbone	1/20.000	6,8
Caféine	1/1.000	7,2
Picrotoxine	1/1.500	7,0
Thyroxine	1/3.000	
Post-hypophyse	1 U. 1 cm ³	< 6,8

TABLEAU II

Substances abaissant le tonus

	Concentration	pH
Hyposulfite de sodium...	1/250	7,4
Hyposulfite de magnésium	1/200	7,3
Chlorure de magnésium...	1/600	7,6
Sulfate de magnésium....	1/300	7,0
Chlorhydrate d'héroïne ...	1/50.000	< 6,8 (contracturant à 1/500)
Chloroforme	1/10 000	7,3 (contracturant à 1/1.000)
Chloral hydraté.....	1/1.000	6,8 (contracturant à 1/100)
CO ₂	Q. S.	6,8

TABLEAU III

Contractions rythmées sans élévation marquée du tonus

	Concentration	pH
Chlorure d'ammonium.....	1/500	6,8
Bromure d'ammonium.....	1/500	6,8
Iodure d'ammonium	1/500	< 6,8
Azotate d'ammonium.....	1/1.000	6,8
Sulfate d'ammonium.....	1/500	6,8
Alcool octylique.....	1/1.500	7,0
Pavéron	1/75	< 6,8
Sulfate de quinidine.....	1/50.000	7,3
Sulfate de quinine.....	1/20.000	6,9
Chlorhydrate de quinine et d'urée ...	1/10.000	< 6,8

TABLEAU IV

Elévation du tonus avec contractions rythmées

	Concentration	pH
Fluorure de sodium	1/3.000	6,9
Iodure de sodium	1/500	8,4
Azotate de sodium	1/1.000	7,1
Iodure de baryum	1/50.000	7,2
Sulfate d'atropine	1/600	< 6,8
Sulfate d'hyosciamine	1/1.000	7,0
Dionine	1/1.500	< 6,8
Chlorhydrate de thébaïne	1/2.500	6,9
Sulfate de narcotine	1/25.000	< 6,8
Chlorhydrate de papavérine	1/10.000	< 6,8
Eucodal	1/2.000	6,9
Pantopon	1/50	< 6,8
Coramine	1/150	7,0
Sulfate de strychnine	1/15.000	6,8
Chlorhydrate de quinine	1/15.000	6,8
Sulfate de quinine	1/25.000	7,3
Chlorhydrate d'éphédrine	1/500	6,9
Chlorhydrate de tyramine	1/2.000	7,0
Novocaïne	1/2.500	6,9
Stovaïne	1/10.000	6,8
Larocaïne	1/5.000	7,0
Sulfate de vératrine	1/5.000.000	6,9
Sulfate de spartéine	1/10.000	6,9
Chlorhydrate de yohimbine	1/3.000	6,8
Chlorhydrate de guanidine	1/1.000	7,1
Cardiazol	1/50	6,9
Numal	1/20	> 8,4
Ether	1/250	7,0
Saponine	1/5.000	7,0

TABLEAU V

Elévation du tonus sans contractions rythmées

	Concentration	pH
Chlorure de potassium	1/1.500	7,0
Iodure de potassium	1/1.000	7,1
Bromure de potassium	1/600	7,1
Sulfate de potassium	1/1.500	7,3
Azotate de potassium	1/2.500	7,2
Chlorure de calcium	1/1.000	7,0
Bromure de calcium	1/200	> 8,4
Iodure de calcium	1/500	8,2
Azotate de calcium	1/5.000	6,9
Chlorure de baryum	1/50.000	6,9
Bromure de baryum	1/100.000	7,2
Azotate de baryum	1/50.000	7,2
Chlorure de manganèse	1/2.000	7,2
Bromure de manganèse	1/1.000	< 6,8
Azotate de manganèse	1/250	< 6,8
Sulfate de manganèse	1/2.000	< 6,8
Azotate de magnésium	1/250	7,3
Ouabaïne Arnaud	1/100.000	7,1
Chlorure de pilocarpine	1/10.000	6,8
Chlorure de cocaïne	1/50.000	7,0
Sulfate d'ésérine	1/500.000	7,0
Nicotine	1/2.500.000	7,1

Cette classification correspond, croyons-nous, à une distinction très réelle ; cependant, comme toute classification, elle présente un caractère artificiel en ce sens que d'une part, entre les différents groupes existent tous les intermédiaires et que, d'autre part, suivant la dose à laquelle elle est employée, telle drogue pourra passer d'un tableau à l'autre.

C'est ainsi que l'héroïne qui abaisse le tonus à faible dose, produit une légère élévation avec contractions rythmées si on l'emploie à forte dose et si on a la patience d'attendre que le muscle en soit suffisamment imprégné.

C'est ainsi que le sulfate de quinine, substance type du groupe III (contractions rythmées sans élévation de tonus) à 1 p. 50.000, passe dans le groupe IV (contractions rythmées avec élévation de tonus) pour une concentration deux fois plus forte.

Existe-t-il une classification pharmacodynamique superposable à cette classification physiologique ? Il est difficile de l'affirmer.

Remarquons simplement *en ce qui concerne les cations* que les ions Na sont inactifs même à 1 p. 200. Les ions Mg dépriment le tonus à 1 p. 2.000 ; les ions K, Ca, Mn, l'élèvent à 1/4.000 environ, l'ion Ba à 1 p. 100.000. L'ion Am à dose convenable, 1 p. 1.500, produit une série de contractions amples sans élévation marquée du tonus.

En ce qui concerne les anions, Cl, Br, SO_4 paraissent inactifs. Nous soulignons la présence dans ce groupe du citrate de soude d'où la possibilité de rechercher l'acétylcholine sur du sang citraté à condition toujours que la réaction ionique du Ringer où baigne la sangsue-réactif ne dépasse pas 7,3 — 7,4.

F, I et NO_3 semblent contracturants.

L'influence de certains sels laisse prévoir que chaque ion a agi pour son propre compte. Ainsi, alors que les sels de magnésium sont tonotropes négatifs à 1 p. 2.000 et le nitrate de sodium tonotrope positif à 1 p. 1.000, le nitrate de magnésium devient tonotrope positif à 1 p. 250.

L'action du sulfate d'ésérine qui produit même à 1 p. 500.000 une élévation du tonus sans contractions rythmées, mérite une mention particulière. La présence d'ésérine est en effet nécessaire pour que le muscle de

sangsue présente vis-à-vis de l'acétylcholine toute sa sensibilité. Et même l'on admet qu'une substance dont l'action contracturante n'est pas nettement diminuée en l'absence d'ésérine, ne doit pas être rattachée au type acétylcholine.

Les fluorures (KAHLSON et UVNAS, 1935) diminuent la destruction de l'acétylcholine sans toutefois la supprimer complètement. Ils augmentent la sensibilité des muscles striés pour l'acétylcholine et parfois de façon meilleure que l'ésérine. Par contre, en présence d'une préparation de sangsue, ils entravent l'action de l'estérase, mais ne sensibilisent pas cette musculature.

Parmi les autres substances sensibilisantes étudiées ici, mentionnons la morphine et la caféine qui n'ont pas d'action contracturante et surtout l'eucodal dont nous avons découvert le fort pouvoir potentialisateur (sensiblement égal à celui de l'ésérine). L'eucodal ne fait contracter le muscle qu'à la concentration de 1 p. 2.000, alors que, — nous le verrons par la suite — son action sensibilisatrice est manifeste à partir de 1 p. 200.000.000 vis-à-vis d'une solution d'acétylcholine à 1 p. 400.000.

Nous soulignons enfin, les résultats que nous avons obtenus avec *un certain nombre d'eaux minérales*.

En ajoutant 10 cm³ d'eau minérale aux 20 cm³ de solution de Ringer où baigne la préparation, on obtient :

Une chute de tonus :

Châtel-Guyon Gubler.

Une baisse légère où une action indifférente.

Royat Saint-Mart.

La Bourboule Choussy.

Le Mont-Dore Chanteurs.

Vichy Célestins.

Saint-Nectaire Cornadore.

Le Boulou.

Ardes Bernadie.

Une élévation de tonus :

Saint-Honoré.

Luchon Bordéu.

Vittel.

Contrexeville.

Challes (même au 1/20^e).

Discussion

Ce travail systématique se trouve « recoupé » par une série d'études partielles, les unes antérieures et les autres postérieures. Nous allons en tenter une confrontation rapide dans tous les cas où il nous sera possible de le faire.

TESCHENDORF (1921) a montré que le muscle de sangsue était généralement peu affecté par les changements de pression osmotique et par les variations de température. Cet auteur étudie également l'influence de certains anions et cations : tandis que NO_3^- , I^- , SCN^- , augmentent le tonus, Cl^- , Br^- , PO_4^- , ClO_3^- , sont sans action. L'insuffisance de Na^+ élève le tonus ; le K^+ à fortes concentrations, NH_4^+ , Ba^{++} , augmentent le tonus ; le Mg^{++} l'abaisse et le Ca^{++} est sans action. Ces constatations concordent bien avec les nôtres, sauf pour les sels de calcium que nous avons trouvés contracturants à doses suffisantes.

MINZ (1932) a établi qu'une concentration de choline à 1 pour 10.000 était nécessaire pour provoquer la contraction du muscle ; l'histaminé et la peptone sont sans

action, de même que l'adrénaline ; la neurine provoque une contraction à 1 p. 20.000 ; l'atropine agit à forte concentration (1 p. 2.000) en provoquant une légère contraction. Nos résultats sont donc sensiblement d'accord avec ceux de MINZ, ainsi d'ailleurs qu'avec les expériences de Th. FONTAINE (1935), notamment celles relatives à la vératrine et à la spartéine. Plus récemment, H. BUSQUET (1937) a confirmé la mise en branle d'un automatisme rythmique chez le muscle de sangsue que nous avons mis en évidence avec les sels de quinine, tandis que D. VINCENT (1938) retrouvait également nos résultats relatifs au déclenchement de cet automatisme en présence d'alcool octylique. Enfin, CHIRAY, JUSTIN-BESANÇON et leurs collaborateurs (1938) ont repris nos expériences sur les eaux minérales et ont trouvé, à la source, un antagonisme relatif entre l'eau de Vichy fraîche et l'acétylcholine sur une préparation éserinée.

Remarques

Parmi les faits que nous avons apportés, relatifs à la sensibilité du muscle de sangsue à d'autres drogues que l'acétylcholine, un certain nombre méritent, croyons-nous, d'être soulignés avec une particulière insistance.

A. — Ces résultats ont été obtenus sur des muscles dorsaux antérieurs de sangsue totalement privées de leur chaîne nerveuse. *Est-ce à dire que les dites substances ont agi directement sur la cellule musculaire elle-même, ou s'est-il trouvé des éléments nerveux susceptibles de servir d'intermédiaire anatomique ?*

Il est difficile de répondre à cette question. Ce qui est sûr, c'est que le comportement du muscle énervé est

totalelement différent de celui auquel on a conservé une partie de sa chaîne nerveuse. Ce dernier est animé de petites contractions continuelles et apparemment spontanées. L'autre reste perpétuellement immobile. Ses réactions sont excessivement lentes. Aussitôt après sa dissection et son immersion dans le Ringer approprié, le muscle est en état de contracture. Il met une heure ou deux à se détendre, suivant le contre-poids, le degré de température et la quantité d'oxygène, puis il se stabilise. La trace laissée sur un cylindre enregistreur par le style dont il est solidaire, va rester pendant des heures inéluctablement horizontale. Ajoutons de l'ésérine à 1 p. 500.000, puis une quantité relativement forte d'acétylcholine, par exemple 1 p. 50.000.000, le muscle se contracte presque immédiatement : contraction puissante, mais lente, qui n'atteindra son maximum qu'en quinze, vingt minutes et plus, et persistera en plateau. Le muscle de sangsue est un muscle tonique.

Au lieu d'ajouter de l'acétylcholine au bain de Ringer, mettons-y quelques gouttes d'une solution d'anesthésique, l'allylisopropylbarbiturate de Na ou autre. Il y a contraction brusque. Phénomène banal puisque nous savons que ce produit présente une alcalinité élevée. Mais rapidement la contraction cesse, une détente aussi brusque lui fait suite, puis de nouveau une contraction, etc. Le rythme est si rapide qu'une sangsue totale, avec sa chaîne ganglionnaire intacte, ne pourrait imprimer de mouvements plus nerveux au levier inscripteur.

Est-ce bien le même muscle qui a mis des heures à se détendre sous la traction d'un poids élevé, et une fraction d'heure à se contracter sous l'influence de son excitant spécifique, l'acétylcholine ? Et comme paraît singulière dans ce cas, l'action d'un véritable anesthésique ! Il ne s'agit pas d'ailleurs d'un phénomène de bascule entre une réaction ionique qui tendrait à élever le tonus et une action narcotique qui tendrait à l'abaisser, car

ce rythme précipité peut se produire sous l'influence d'un bien grand nombre d'anesthésiques ou de substances différentes dont les solutions sont rigoureusement neutres (fig. 4).

Outre les nombreuses drogues que nous avons indiquées comme capables de réveiller cet automatisme, notons le thymol et le toluène signalés par D. VINCENT (1938) et que nous rapprochons de l'alcool octylique (DASTUGUE, 1937).

B. — Un second point sur lequel nous ne saurions trop insister, c'est *la lenteur parfois considérable* de la musculature de sangsue à répondre à certains agents pharmacologiques. Sans doute, cette lenteur ne joue pas toujours dans la pratique, où il est entendu de laisser le sensibilisateur puis l'acétylcholine un temps déterminé et relativement court (3 minutes pour l'acétylcholine) au contact de la préparation. De ce point de vue, il faudrait donc faire une distinction entre les substances, ou plutôt les quantités de substances actives pour une durée de contact assez brève et celles qui ne le deviennent que pour une durée de contact plus longue.

Au cours de nos expériences, nous avons pu remarquer que le temps de latence peut atteindre une heure et plus vis-à-vis de certaines drogues (chlorhydrate de guanidine à 1 p. 1.000 par exemple). Puis les contractions apparaissent et peuvent s'amplifier au bout d'une nouvelle heure, à tel point que l'on reconnaît être en présence d'un produit actif après l'avoir jugé sans action. *Certaines divergences entre les auteurs pourraient aisément trouver là leur explication.* Ainsi, le fait que FUHNER n'a pas décelé de contraction par la pilocarpine à 1 p. 5.000, alors que GAUTRELET et ses élèves (1936) en ont obtenu une à 1 p. 3.000 et que nous-même l'ayons constatée à 1 p. 10.000, nous paraît relever de ce phénomène. Enfin, nous rapprochons cette lenteur des résul-

tats de L. LAPICQUE et H. LAUGIER (1927 et 1936) qui ont trouvé pour la musculature de sangsue une chronaxie considérable variant de 15 à 30 sigma.

C. — La troisième remarque que nous désirons faire c'est que, lorsque l'on parle de l'extraordinaire sensibilité de la préparation de sangsue à l'acétylcholine, on envisage toujours le degré de sensibilité d'une préparation éserinée. Mais sur une musculature simplement énermée et non éserinée, comme celle sur laquelle nous avons travaillé, quelle comparaison peut-on faire entre la sensibilité de la préparation à l'acétylcholine et la sensibilité à d'autres drogues que cette substance ? Eh bien, nous ne pensons pas, d'après notre propre expérience que, dans ces conditions, quelle que soit la variété de sangsue envisagée, la sensibilité à l'acétylcholine puisse être fixée, à quelques exceptions près, par une concentration inférieure à 1 p. 500.000. Or, si la grande majorité des substances actives possèdent un seuil d'action beaucoup plus élevé, cependant il faut noter que le *sulfate d'éserine* lui-même produit une contracture à partir de 1 p. 500.000 (à condition, il est vrai, d'attendre un certain temps), que le *sulfate de vératrine* est déjà très actif à partir de 1 p. 2.000.000 et la *nicotine* à partir de 1 p. 2.500.000 et cela, dans ces deux derniers cas, quasi instantanément.

D. — Enfin, la dernière remarque a trait *aux variations de sensibilité*. Sur ce point, nous ne pouvons apporter de documents personnels qu'en ce qui concerne l'éserine et l'acétylcholine, n'ayant pas eu l'occasion de répéter les expériences sur chacune des autres drogues un aussi grand nombre de fois.

Les variations de sensibilité de la même préparation au cours même d'une expérience nous ont paru assez faibles si l'on prend soin de ne pas laisser s'élever le pH du Ringer en le renouvelant fréquemment, et de ne pas

multiplier outre mesure les essais de contracture acétylcholinique (6 à 8 par exemple). On ne saurait trop recommander cependant d'encadrer chaque essai entre deux étalonnages.

Les variations de sensibilité d'une sangsue à l'autre et surtout, semble-t-il, d'une saison à l'autre sont très considérables et tous les auteurs s'accordent à le reconnaître. En été, la sensibilité peut être fortement diminuée. De fait, si nous nous rapportons à notre propre documentation, nous constatons que, *en ce qui concerne l'ésérine*, une concentration de 1 p. 400.000 qui, la plupart du temps, ne possède aucune action tonique appréciable pendant un intervalle de quelques minutes, était cependant capable parfois de faire contracter le muscle ; *en ce qui concerne l'acétylcholine*, une concentration de 1 p. 400.000 est généralement suffisante pour déterminer en 3 minutes une contracture sur une préparation énercée mais non ésérinée, cependant il nous a fallu atteindre parfois une dose quatre fois supérieure pour obtenir le même résultat. C'est pourquoi, L. FRANEL (1935) conseille, suivant la formule de WACHOLDER (1933) l'emploi de deux sortes de Ringer suivant la saison. Mais, D. VINCENT (1938) qui a suivi cette méthode, n'a pas abouti à des conclusions d'une grande netteté. Nous reviendrons d'ailleurs sur cette question en traitant des facteurs de sensibilisation.

Facteurs biochimiques

Nous avons eu déjà l'occasion d'y faire allusion. Autre est le problème du dosage biologique de l'acétylcholine quand celui-ci est pratiqué sur des solutions pures ou sur des extraits de sang et de tissus. L'acétylcholine

se trouve alors mélangée à des substances parasymphatomimétiques (choline, esters de choline, sels de potassium) et à des substances dépressives et vasodilatatrices (histamine, substances adényliques, substance P de von EULER et GADDUM (1931), substance R de CHANG et GADDUM (1933), « Frühgift » de FREUND (1920) qui pourrait n'être qu'une substance adénylique, (ZIPF, 1930) créatinine, carnitine, acétylcarnitine (STRACK, WÖRDEHOFF et SCHWANEBERG, 1936 ; WEGER, 1936), callicréine, (FREY et KRAUT, 1928 ; KRAUT, FREY et WERLE, 1930) substances qui perturbent considérablement le dosage.

Suivant l'exposé de E. KAHANE et J. LÉVY (1938), dont nous nous inspirons ici, il faut donc avoir recours à des propriétés pharmacologiques, biochimiques ou chimiques de l'acétylcholine, qui paraissent plus spécifiques ou qui fournissent un caractère supplémentaire d'identification : potentialisation par l'ésérine, antagonisme de l'atropine, inactivation par l'estérase du sérum, les alcalis ou l'ébullition prolongée de la solution aqueuse.

Sur le muscle de sangsue sera constatée l'exaltation de l'activité par l'ésérine qui se produit également avec d'autres esters de la choline, propionylcholine, butyrylcholine, pyruvylcholine, etc..., mais qui ne se produit ni avec la choline, ni avec les sels de potassium, ni avec l'histamine.

D'après les variations de la pression artérielle, de l'amplitude cardiaque et du tonus intestinal on pourra déduire l'antagonisme de l'atropine, propriété manifeste également vis-à-vis de la choline et des esters de choline, mais non vis-à-vis des sels de potassium, de l'histamine et de la substance P de EULER et GADDUM.

L'inactivation de l'acétylcholine par contact avec l'estérase du sérum, avec les alcalis, ou par l'ébullition prolongée d'une solution neutre, fournira également des résultats intéressants. Encore faudra-t-il tenir compte du

fait que l'histamine et la substance P sont, comme l'acétylcholine, quoique à un moindre degré, instables en milieu alcalin et que les substances adényliques et la substance R ne résistent pas absolument à la chaleur, surtout en milieu acide.

Notre contribution personnelle avait pour but d'étudier la question d'une action propre du sang sur le muscle de sangsue. Sur des lapins non endormis, nous avons effectué une série de prises de sang à la veine marginale de l'oreille (5 à 10 cm³ chaque fois). Ce sang était reçu dans une seringue renfermant du liquoïde Roche en solution à 1 p. 100 (0,5 cm³). Dans la plupart des cas, l'addition de ce sang à des doses variant de quelques gouttes à 3 ou 4 cm³, aux 20 cm³ de Ringer où baigne la sangsue, a provoqué *une contraction du muscle*. Cette contraction se produisait que le muscle fut éseriné ou non. *Elle n'était donc pas due à l'acétylcholine*, d'autant plus que le sang prélevé sur un animal non éseriné avait été gardé quelques heures à la température du laboratoire sans addition d'éserine. *Elle n'était pas due à la substance anti-coagulante*, car le liquoïde Roche n'a de lui-même aucune action à la concentration employée (phénomène déjà observé par L. FRANEL, 1935) et nous avons obtenu des résultats analogues avec du sérum de cobaye recueilli par centrifugation après défibrination, sans addition d'aucune substance. *Elle n'était pas due non plus à la différence de concentration* qui existe entre le sang d'un mammifère et le Ringer de la sangsue, car nous avons pu modifier cette concentration de façon plus considérable avec du chlorure de sodium sans obtenir de contraction. *Elle serait donc due à une substance X* que nous croyons être thermostable, car un sang préalablement actif, l'était encore après chauffage pendant 15 minutes à 58°.

La contraction provoquée par le sang ou le sérum est brève. Une chute de tonus lui fait suite, plus lente et

dans certains cas le second effet l'emporte sur le premier. DEMOOR a déjà signalé l'action décontracturante du sérum de chat. L'addition à 20 cm³ de Ringer ésériné de 1 cm³ ou 1/2 cm³ de sérum entraîne une décontraction nette du muscle de sangsue au repos. Cette décontraction est bien due au sérum et non à l'action éventuelle de son estérase sur l'acétylcholine du muscle de sangsue, puisque l'ésérine du Ringer empêche cette destruction de se produire.

Pour FLEISCH, SIBUL et KAEIN (1936), sitôt que la circulation devient insuffisante, que la pression sanguine s'abaisse de façon notable, le sang veineux des animaux renferme une substance contractant le muscle de sangsue. Cette substance est détruite par l'estérase du sang, c'est donc bien une substance à type acétylcholine.

Mais FLEISCH et CAVIN-FRANEL (1936) admettent qu'après injection dans le sang artériel de diverses substances vaso-dilatatrices (histamine, acide adénylique de la levure, taurocholate de Na, etc.), existe dans le sang veineux une substance qui est différente des substances vasodilatatrices injectées, différente également de l'acétylcholine, car elle n'est pas détruite par l'estérase sanguine et qui cependant fait contracter la sangsue. Par contre, CHANG et GADDUM (1933) ont signalé que les substances indéterminées P et R, rencontrées dans les extraits de tissus, sont sans action sur le muscle de sangsue.

Enfin E. KAHANE et J. LÉVY (1939) ont constaté la présence dans les extraits d'intestin d'une substance présentant sur le muscle de sangsue ésériné, une activité comparable à celle de l'acétylcholine.

Cette substance dont l'activité croît par chauffage à 70°, se distingue de l'acétylcholine ou des substances acétylcholiniques par les caractères suivants : 1° elle se manifeste avec la même intensité sur le muscle de sangsue non ésériné ; 2° elle résiste à l'action de la choline-

térase ; 3° la substance active disparaît par défécation ; 4° elle est précipitée par l'alcool ; 5° elle est stable en milieu alcalin.

On voit donc, en conclusion, que lorsqu'on applique l'admirable méthode de MINZ et FELDBERG à la recherche et au dosage de l'acétylcholine dans le sang, *il est nécessaire de connaître l'action propre de ce même sang sur le muscle de sangsue* en dehors de celle de l'acétylcholine qu'il est censé renfermer. Cette action propre du sang suivant les différents états physiologiques ou pathologiques est encore bien mystérieuse. Il ne paraît cependant pas qu'on puisse la négliger.

Conclusions

Nous avons recherché systématiquement l'action des principaux facteurs physiques et d'une centaine de facteurs physico-chimiques sur le muscle de sangsue énervé et non éseriné, en survie, *in vitro*. Nous avons pu de la sorte, classer ces dernières substances en plusieurs catégories suivant que, aux doses et aux conditions indiquées :

- a) leur action était nulle ;
- b) elles abaissaient leur tonus ;
- c) elles produisaient des contractions rythmées sans élévation marquée du tonus ;
- d) ou des contractions rythmées avec élévation marquée du tonus ;
- e) ou enfin une élévation forte et relativement brusque du tonus avec peu ou pas de contractions rythmées.

Après avoir insisté sur les doses actives des drogues les plus intéressantes et les particularités de la réponse musculaire à leur égard, nous avons passé à l'examen de quelques facteurs biochimiques.

Nous avons ainsi montré qu'un sang rendu incoagulable ou mieux qu'un sérum obtenu par centrifugation (lapin et cobaye), prélevé sur un animal à l'état de veille et ne renfermant ni anesthésique, ni acétylcholine pouvait cependant être capable de modifier le tonus de la préparation de sangsue éserinée ou non.

De l'ensemble des faits ainsi accumulés, nous croyons pouvoir conclure de façon formelle qu'avant de tester sur un muscle de sangsue un liquide complexe d'origine biologique, il est nécessaire de préciser son action propre sur la préparation en dehors de celle de l'acétylcholine qu'il est censé renfermer.

CHAPITRE II

La sensibilisation de la préparation de sangsue par d'autres drogues que l'ésérine

Depuis la découverte de FUHNER (1918) et l'application pratique que MINZ (1932) en a faite, il est classique de considérer l'ésérine comme la substance qui possède — de beaucoup — le plus fort pouvoir sensibilisateur sur le muscle de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine.

Personnellement, nous avons coutume de mettre le sulfate d'ésérine à la concentration de 1 p. 400.000 au contact de la préparation six minutes avant l'addition d'acétylcholine. Il est facile de constater que l'on peut dans ces conditions doser des quantités très faibles d'acétylcholine correspondant à des dilutions de 1 p. 200.000.000, 1 p. 400.000.000, par exemple, mais il est

possible d'arriver à une sensibilisation encore plus grande. Il peut d'ailleurs être recommandé de faire varier la concentration en ésérine et le temps de contact de celle-ci avec le muscle. L'ésérine agirait, d'une part en bloquant la cholinestérase présente dans la plupart des tissus et des humeurs, et d'autre part en sensibilisant directement la préparation.

Si nous nous rappelons qu'un muscle énérvé, mais non ésériné, ne réagit guère que si la concentration en acétylcholine est de 1 p. 400.000, on voit que l'augmentation de sensibilité peut atteindre 1.000 fois la valeur normale (et même 10.000 fois). On arrive donc, ici, non seulement à un dosage, mais à une identification de l'acétylcholine, car il est admis qu'aucune autre substance n'est sensibilisée dans une telle proportion.

Ainsi MINZ (1932) a bien souligné que s'il faut, sans ésérine, de fortes concentrations d'acétylcholine (5×10^{-5} à 5×10^{-6}), des concentrations minimales (de 1×10^{-8} à 1×10^{-11}) suffisent en présence d'ésérine. Par contre, la choline, l'histamine, la peptone, l'adrénaline, la thyroxine, l'acide adénylique, qui agissent à fortes doses sur le muscle de sangsue, n'exercent pas une action plus importante après l'ésérine.

D'après CHANG et GADDUM (1933), il est nécessaire de satisfaire aux conditions suivantes, pour pouvoir affirmer qu'on se trouve en présence de la « substance équivalente à l'acétylcholine » :

1° L'effet doit être augmenté dans de grandes proportions par l'ésérine ;

2° L'activité doit disparaître rapidement lorsqu'on ajoute du sérum à l'extrait neutralisé ;

3° De même, le passage en milieu fortement alcalin pendant environ 10 minutes (volume égal de Na OH, 2N) à la température ordinaire doit en détruire l'effet.

Quelle que soit cependant, de ce point de vue, l'intensité d'action de l'ésérine, il est d'autres substances qui, à un degré notablement moindre il est vrai, sont également capables de manifester un pouvoir potentialisateur.

Les substances favorisantes

MINZ (1932) a signalé l'hypersensibilité du muscle de sangsue sous l'influence de la choline. Le même fait a été observé pour l'histamine (BAYER et WENSE, 1936); pour la génésérine, l'éphédrine, l'antipyrine, la choline (E. KAHANE et J. LÉVY, 1937); pour la créatinine (1 p. 10.000), le cardiazol (1 p. 5.000 à 1 p. 10.000), la coramine (1 p. 1.000 à 1 p. 5.000), (EMMELIN et KAHLSON, 1937); répétant ces expériences en ce qui concerne la créatine et la créatinine, D. VINCENT (1938) n'a trouvé qu'une très faible sensibilisation. GAUTRELET et ses collaborateurs (1936) n'ont pas retrouvé l'action sensibilisante attribuée par certains auteurs à la pilocarpine et à la guanidine. BINET et MINZ (1934) ont noté que si l'on excite électriquement un fragment de nerf vague isolé dans une solution de Ringer-Locke, on constatait le passage dans le liquide d'une substance thermostable, qui sensibilise à l'acétylcholine le muscle dorsal de sangsue. Par la suite, les mêmes auteurs (1935) ont précisé que l'excitation du pneumogastrique par voie réflexe aboutissait à la production d'une substance jouissant de la même propriété. Enfin, MINZ et ses collaborateurs (1938) ont cru pouvoir identifier cette substance sensibilisante libérée par l'excitation du nerf vague, avec la vitamine B₁.

D'après KAHLSON et UVNAS (1935) les fluorures diminuent l'activité de l'estérase de la préparation de sang-

sue vis-à-vis de l'acétylcholine, mais sans sensibiliser cette musculature à proprement parler.

E. CORTEGGIANI (1938) a signalé la sensibilisation importante du muscle de sangsue ésériné vis-à-vis de l'acétylcholine par augmentation de la concentration en chlorure de sodium du bain ; si cette concentration passe de 6,5 p. 1.000 à 9,5 p. 1.000, on remarque déjà une légère sensibilisation à l'acétylcholine. C'est sans doute pour cette raison que LANARI (1936) a préconisé un Ringer spécialement enrichi en chlorure de sodium (12 p. 1.000). Mais une telle formule semble devoir être rejetée, car si le muscle est en effet très sensible à l'acétylcholine au début de l'expérience, cette sensibilité est peu stable, elle décroît rapidement et, par suite, ne permet pas un dosage précis.

Enfin, E. KAHANE et J. LÉVY ont insisté récemment (1939) sur le pouvoir sensibilisant de la morphine.

Dès à présent d'ailleurs, une remarque s'impose. Nous avons considéré jusqu'ici le cas où l'on cherche à remplacer l'ésérine par une autre substance capable de jouer, — plus ou moins, — *à sa place*, une action sensibilisante. Mais que va-t-il advenir si ces substances — favorisantes en l'absence d'ésérine — sont mises au contact d'une préparation préalablement ésérinée ? Eh bien, l'expérience montre que parfois, — dans le cas de certains alcaloïdes dérivés de la morphine, par exemple, — l'action sensibilisante s'efface pour faire place à un pouvoir inhibiteur.

Nous arrivons donc ainsi à la question des substances antagonistes, — sur le muscle de sangsue — de l'acétylcholine. Nous croyons que ce problème des antagonistes a été moins étudié que celui des sensibilisateurs, et encore faudrait-il faire également la distinction entre le cas où la préparation est ésérinée et ceux où elle ne l'est pas.

Substances inhibitrices

Th. FONTAINE (1935) a signalé l'alcool éthylique. Personnellement nous n'avons pas eu d'antagonisme avec le sulfate d'atropine à 1 p. 1.000, le chlorhydrate d'adrénaline à 1 p. 7.000, l'héroïne à 1 p. 50.000, le chloroforme à 1 p. 20.000, l'hydrate de chloral à 1 p. 1.000, l'uréthane à 1 p. 1.000, l'hyposulfite de Na à 1 p. 250, vis-à-vis de l'acétylcholine à 1 p. 50.000.000 (préparation ésérinée). Au contraire cet antagonisme nous l'avons trouvé très net avec les sels de magnésium (chlorure, sulfate, hyposulfite) à 1 p. 1.000 et le chlorure de calcium à doses plus élevées.

Il convient de dire qu'il n'y a pas de rapport simple entre l'action tonotrope négative de certaines drogues et leur action antagoniste vis-à-vis de l'acétylcholine.

Aux doses qui déterminent une chute constante du tonus, l'héroïne, le chloroforme, le chloral, l'hyposulfite de sodium n'empêchent pas l'acétylcholine. Les sels de magnésium qui sont antagonistes à 1 p. 1.000 ne sont tonotropes négatifs qu'à dose plus forte sur le muscle normal. Par contre, ils le deviennent à cette dose sur le muscle contracturé ; remarque analogue pour CO_2 .

Un courant de CO_2 se dégageant bulle à bulle dans le Ringèr, produit une chute de tonus, mais n'empêche pas l'action de l'acétylcholine à 1 p. 50.000.000 (préparation ésérinée). Par contre, la contracture acétylcholinique une fois établie est aisément rompue par un courant de CO_2 (fig. 5). Celui-ci arrêté, la contraction se reproduit, pouvant dépasser notablement le point où elle avait été sus-

pendue par l'arrivée de CO_2 . Un nouveau courant de CO_2 est d'ailleurs tout aussi capable de produire au bout de quelques instants une chute excessivement rapide du tonus et l'expérience peut être répétée ainsi plusieurs fois.

Parmi les substances dont il nous a été donné de rechercher éventuellement l'action antagoniste, nous signalons certaines eaux minérales dont nous avons par ailleurs indiqué l'influence directe sur la musculature de sangsue.

Pour rechercher l'action antagoniste d'une eau minérale, nous mélangeons 10 cm³ de cette eau à 20 cm³ de la solution de Ringer renfermant le muscle dorsal antérieur énervé et ésériné de sangsue. Après quelques minutes on ajoute une quantité d'acétylcholine telle que la dilution finale, soit de 1 p. 50.000.000. Le muscle se contracte, ne se contracte pas, ou se contracte très lentement. On lave plusieurs fois avec du Ringer. On donne le temps au muscle, s'il y a lieu, de revenir à son état de tonus initial et le muscle est étalonné en présence de 30 cm³ de Ringer pur ésériné avec la même quantité d'acétylcholine que précédemment.

Il est nécessaire de ne pas attendre longtemps entre l'addition d'eau minérale et l'addition d'acétylcholine. En effet, avec les eaux minérales pauvres en bicarbonates, peu ou pas tamponnées, le courant d'oxygène traversant le bain est suffisant pour faire monter assez vite le pH et donner ainsi à la solution une réaction ionique susceptible à elle seule de neutraliser l'action de l'acétylcholine.

De la sorte, Châtel-Guyon Gubler, le Mont-Dore Chanteurs, Vittel et Contrexeville paraissent antagonistes. Ardes Bernadie, le Boulou, Vichy Célestins, La Bourboule Choussy, n'empêchent pas l'acétylcholine. Réaction

moins nette avec Luchon Bordeu, Saint-Honoré et Royat Saint-Mart (1).

Les ions H et OH ont une grosse importance. A partir de pH 7,4 la sensibilité² de la préparation à l'acétylcholine diminue très notablement.

E. CORTEGGIANI (1938) insiste sur l'influence inhibitrice du potassium. Après addition de 1 cm³ de Cl K à 9 p. 1.000 aux 50 cm³ de Ringer ésériné renfermant le muscle de sangsue, la sensibilité du muscle à l'acétylcholine a diminué de moitié ; d'ailleurs, après plusieurs lavages, la sensibilité normale réapparaît. De même GOLWITZER-MEIER et KRUEGER (1934) avaient déjà signalé que le potassium libéré au cours de l'hémolyse était capable d'empêcher l'action sur le muscle de sangsue de l'acétylcholine contenue dans le sang.

Dans les expériences que nous venons de citer (tout au moins en ce qui nous concerne) nous mettions la substance, dont nous recherchions l'action inhibitrice, au contact de la préparation *avant* l'addition d'ésérine. Il est possible, dans certains cas, tout au moins, que les résultats eussent été différents si le contact n'avait été réalisé qu'après celui de l'ésérine.

(1) Nous avons eu l'occasion de rechercher si certains de ces antagonismes pouvaient être retrouvés *in vivo*. En collaboration avec Mlle Balme, nous avons injecté à des chiens chloralosés des doses d'acétylcholine correspondant à 1/400^e de milligr. par kg. et ce, avant et après injection intraveineuse de 7 cm³ d'eau minérale fraîche de Châtel-Guyon (par kg). Aucune modification dans la valeur de l'hypotension acétylcholinique n'a pu être constatée. Nous avons fait, toutefois, remarquer à ce propos, que ces doses d'acétylcholine, — si faibles soient-elles — étaient encore très supérieures à celles susceptibles d'être trouvées éventuellement, à l'état libre, chez l'individu normal (*Ann. Soc. Hydr., Paris*, 1938, 79, p. 234).

Action inhibitrice et sensibilisante des alcaloïdes dérivés de la morphine

Dès 1936 (C. R. Soc. Biol., t. 121, p. 220) nous nous étions occupés de l'action exercée par l'héroïne sur la sensibilité de la musculature de sangsue à l'acétylcholine. En 1937, QUASTEL et TENNENBAUM ont étudié l'action inhibitrice des alcaloïdes suivants : morphine, héroïne, codéïne, dionine et apomorphine, action inhibitrice sur une préparation *ésérinée* vis-à-vis de l'acétylcholine. E. KAHANE et J. LÉVY (1939) ont confirmé l'action antagoniste de la morphine sur la préparation *ésérinée*, tout en soulignant son pouvoir sensibilisateur sur une préparation *non ésérinée* et cela non seulement vis-à-vis de l'acétylcholine, mais encore les formyl-propionyl-et isobutyl-choline. Par contre, pour les esters butyrique et benzoïque de la choline, la contraction est diminuée.

Telle est la question que nous nous sommes proposés d'étudier de façon systématique et qui nous a amenés à la constatation du pouvoir sensibilisateur de l'eucodal qui, contrairement à celui des alcaloïdes voisins et contrairement à celui des autres substances favorisantes, est du même ordre de grandeur que celui de l'ésérine elle-même.

Recherches sur l'action sensibilisante

Nos expériences ont porté sur les alcaloïdes suivants : Apomorphine, Codéïne, Dihydromorphine, Dihydrooxycodéine (eucodal), Dionine, Esérine, Génomorphine, Héroïne, Morphine, Papavérine, Thébaïne.

Les sangsues étaient chaque fois étalonnées à plusieurs reprises avec l'acétylcholine à 1 p. 400.000, en enregistrant la réaction correspondante pendant 3 minutes. L'alcaloïde dont on recherchait l'action sensibilisante était ajouté 6 minutes avant l'addition d'acétylcholine.

Dans ces conditions, les concentrations d'alcaloïdes suffisantes pour produire une sensibilisation marquée, sont les suivantes :

Esérine.	}	1 p. 50.000.000.
Eucodal.		
Codéine.	}	1 p. 500.000.
Morphine.		
Dihydromorphine.	}	1 p. 10.000.
Apomorphine.		
Cotarnine.		
Papavérine.		
Génomorphine.	}	1 p. 5.000.
Dionine.		
Thébaïne.	}	1 p. 1.000.
Héroïne.		

Du point de vue où nous nous sommes placés, nous aboutissons donc à une véritable *classification des alcaloïdes dérivés de la morphine* qui se trouvent répartis en 3 groupes principaux.

Un premier groupe représenté par des alcaloïdes à *pouvoir sensibilisateur faible* ou très faible, nécessitant pour être manifeste des concentrations allant de 1 p. 10.000 à 1 p. 1.000 (fig. 6).

Un second groupe représenté par des alcaloïdes (codéine et morphine) à *pouvoir sensibilisateur considérable*, déjà marqué pour des concentrations de 1 p. 500.000.

Un troisième groupe représenté par la dihydrooxy-

codéinone (eucodal), alcaloïde à *pouvoir sensibilisateur intense* de même ordre de grandeur que celui de l'ésérine.

Nous insistons ici de façon toute particulière sur deux faits, que nous croyons nouveaux :

A. — Présentation d'une classification des alcaloïdes dérivés de la morphine basée sur leur pouvoir sensibilisateur vis-à-vis de l'acétylcholine.

B. — Mise en évidence d'un sensibilisateur analogue à l'ésérine comme intensité de potentialisation : l'eucodal.

Recherches sur l'action antagoniste

Un phénomène remarquable sur lequel, — en ce qui concerne la morphine — E. KAHANE et J. LÉVY (1939) ont récemment insisté, c'est le fait qu'une substance sensibilisatrice sur une préparation non ésérinée peut devenir empêchante si on la fait agir après l'ésérine.

Nous avons voulu reprendre l'étude de ce phénomène non seulement pour la morphine, mais pour tous les alcaloïdes dérivés de la morphine dont nous venions d'apprécier le pouvoir potentialisateur.

Le muscle dorsal éterné de sangsue est préparé suivant la technique de MINZ et immergé dans 20 cm³ de Ringer aéré. L'étalonnage est pratiqué 6 minutes après ésérination (1 p. 400.000) par l'enregistrement pendant 3 minutes de la contracture provoquée par l'addition d'acétylcholine à 1 p. 40.000.000. L'alcaloïde dont on veut étudier l'action inhibitrice est ajouté une minute avant l'addition d'acétylcholine. Des lavages abondants permettent d'encadrer chaque essai entre deux étalonnages.

Dans ces conditions, les concentrations d'alcaloïdes suffisantes pour produire une inhibition marquée sont les suivantes :

Héroïne	1 p. 200.000.
Morphine	1 p. 100.000.
Dihydromorphine	} 1 p. 50.000.
Codéine	
Dionine	} 1 p. 10.000.
Thébaïne	
Eucodal	} peu ou pas d'action
Cotarnine	
Apomorphine	
	à 1 p. 5.000.

Disons tout d'abord que le fait de trouver cette fois-ci une forte action antagoniste de l'héroïne (fig. 7) n'est pas en contradiction avec le résultat d'une autre de nos propres expériences, signalée antérieurement (fig. 1, en B) et suivant laquelle une concentration de 1 p. 50.000 d'héroïne ne possède aucun pouvoir empêchant. L'explication de cette contradiction apparente réside simplement en ce que l'action empêchante ne se manifeste que si l'alcaloïde est ajouté après l'ésérine, c'est là un point important à retenir.

Nos résultats sont également en harmonie avec ceux de QUASTEL et TENNENBAUM (1937) qui signalent que, dans des conditions analogues, l'héroïne est un inhibiteur plus actif que la morphine et la codéine, la dionine ayant une activité plus faible à ce point de vue, l'apomorphine, la narcotine, la papavérine et la cotarnine n'ayant pas d'action inhibitrice nette.

Nous arrivons donc à une *nouvelle classification des mêmes alcaloïdes* déjà étudiés précédemment, et nous voyons qu'il existe un renversement total puisque l'alcaloïde le moins favorisant (héroïne) est le plus inhibi-

leur et que le plus favorisant (eucodal) n'a pas de pouvoir empêchant.

Nous nous sommes demandés si l'ésérine elle-même ne serait pas capable de manifester à son tour un pouvoir antagoniste vis-à-vis d'une préparation déjà sensibilisée, par l'eucodal, par exemple.

Sur des muscles étalonnés par l'acétylcholine à 1 p. 40.000.000 en présence d'eucodal à 1 p. 400.000, nous avons ajouté une minute avant l'addition d'acétylcholine des doses croissantes d'ésérine (1 p. 40.000, 1 p. 10.000, 1 p. 5.000). Nous avons constaté que même à ces fortes doses, l'ésérine ne manifestait aucune action inhibitrice. De même que l'eucodal (contrairement aux autres alcaloïdes dérivés de la morphine) n'a pas de pouvoir inhibiteur vis-à-vis d'une préparation ésérinée, de même l'ésérine, à la même concentration, n'a pas de pouvoir inhibiteur vis-à-vis d'une préparation sensibilisée par l'eucodal.

Nous aurons l'occasion, par la suite, et notamment au sujet de l'eucodal, de discuter le mécanisme de l'action sensibilisante des alcaloïdes étudiés. Quant au mécanisme de l'action antagoniste, E. KAHANE et J. LÉVY le déclaraient, il y a peu de temps (1939), non élucidé et nous n'avons pas, pour le moment, de documents personnels à apporter sur ce point.

Nous ferons remarquer cependant que KURT PLUM (1937) a déterminé l'activité spasmolytique des six alcaloïdes principaux de l'opium sur la musculature énervée de sangsue, les spasmes étant provoqués artificiellement par la nicotine. Il a trouvé que cette action spasmolytique correspondait à la constitution chimique, le groupe du phénenthène (morphine, codéine, thébaïne) étant plus actif que la série isoquinoléique (papavérine, narcotine et narcéine). L'activité spasmolytique est dans le rapport suivant : thébaïne 80, codéine 10, morphine 9, papavérine 7, narcotine 2, narcéine 1.

Cette classification étant nettement différente de la nôtre, nous croyons pouvoir en déduire que le mécanisme de l'action spasmolytique vis-à-vis du muscle nicotinisé est différent de celui de l'action inhibitrice exercée par les mêmes substances vis-à-vis de l'acétylcholine sur le même muscle éseriné.

Conclusions

Après avoir rappelé les principales substances synergiques ou antagonistes de l'acétylcholine vis-à-vis de la préparation de sangsue, nous avons présenté l'étude systématique d'un cas particulier, celui des alcaloïdes dérivés de la morphine.

Nous avons montré que ces alcaloïdes selon que l'on considérait leur pouvoir favorisant sur une préparation non éserinée ou leur pouvoir inhibiteur sur une préparation éserinée pouvaient être groupés suivant deux classifications différentes.

Enfin, et surtout, il est remarquable de constater que l'un de ces alcaloïdes, la dihydrooxycodéine (eucodal) possède un pouvoir sensibilisant, jusqu'ici insoupçonné, et de même ordre de grandeur que celui du sensibilisateur classique, l'éserine.

CHAPITRE III

Un sensibilisateur puissant de l'acétylcholine : la dihydrooxycodéinone

Constitution chimique

La dihydrooxycodéinone se présente sous la forme de cristaux blancs fondant vers 218 à 220°, à peine solubles dans l'eau et l'éther, facilement solubles dans le chloroforme.

Le chlorhydrate de dihydrooxycodéinone $C_{15}H_{21}NO_3 \cdot HCl + 3 H_2O$, plus connu sous le nom *d'eucodal*, est une poudre cristalline, blanche, amère, soluble dans 6 parties d'eau et dans 60 parties d'alcool à 90°. Cette poudre renferme 13 p. 100 d'eau environ. Pouvoir rotatoire levogyre (en solution à 5 p. 100, $\alpha_D = 125^\circ$).

Sa solution aqueuse, additionnée d'ammoniaque, laisse précipiter la base. Une solution de 0,05 gr. du sel dans 2 cm³ d'acide sulfurique, additionnée de 1 goutte d'acide azotique, se colore en rouge brun.

L'addition de 0,01 gr. d'eucodal à 1 cm³ d'acide sulfurique formolé communique au liquide une coloration jaune, passant rapidement au rouge violet, puis au bleu violet.

En thérapeutique l'eucodal est utilisé comme un narcotique dont l'action se rapproche davantage de celle de la morphine que de celle de la codéine. Moins toxique que la morphine, il provoquerait une accoutumance moins marquée, mais cette accoutumance existe et l'eucodal est inscrit au tableau B.

Sans envisager la question de la pharmacodynamie de l'eucodal dans son ensemble, — question qui demanderait à elle seule un travail que nous espérons d'ailleurs réaliser un jour — nous rapporterons ici brièvement quelques constatations que nous avons eu l'occasion de faire. Nous considérerons successivement la toxicité (chez le lapin) et l'action sur les organes isolés (cœur d'escargot, intestin de lapin) en faisant une place à part à la préparation éternée de sangsue.

Toxicité

Chez le lapin endormi à l'uréthane, une injection intra-veineuse lente (30 secondes) de dihydrooxycodéine à la dose de 0,5 mg par kg de poids ne détermine aucun signe d'intoxication apparent. Cependant on note une tendance à une baisse légère de la pression artérielle et surtout une forte augmentation de l'amplitude des mouvements respiratoires. Une dose de 7 mg (par kg de poids) en injection intraveineuse produit une mort très

rapide par atteinte du centre respiratoire, les mouvements thoraciques s'arrêtant avant les pulsations cardiaques.

Organes isolés

Sur le cœur d'escargot isolé, en survie, dans une solution de Ringer approprié et aéré, à la température du laboratoire, l'eucodal est toxique à une dilution inférieure à 1 p. 400.000. Nous aurons l'occasion d'y revenir.

Sur l'intestin isolé de lapin, l'action toxique de l'eucodal, qui se traduit par une élévation du tonus et une diminution de l'amplitude des contractions, est très faible et ne se manifeste guère que pour des concentrations supérieures à 1 p. 5.000 (fig. 8).

Muscle de sangsue

L'influence possible de l'eucodal sur le tonus du muscle de sangsue est évidemment d'une importance considérable du point de vue qui nous occupe.

Sur le muscle dorsal antérieur éterné, mais non éterné, il faut atteindre une concentration très élevée (1 p. 1.000 à 1 p. 2.000) pour obtenir une élévation de tonus qui s'accompagne au bout d'une vingtaine de minutes de contractions désordonnées d'amplitude d'ailleurs assez faible (fig. 9).

Sur le muscle dorsal antérieur, éterné et éterné, l'action de l'eucodal, aux doses sensibilisantes, — nous avons même cherché à très fortes concentrations (1 p. 10.000) — est absolument nulle.

Doses sensibilisatrices d'eucodal, — Vis-à-vis d'une

solution d'acétylcholine à 1 p. 400.000, il est possible, dans les cas favorables, que l'action sensibilisatrice soit perceptible à 1 p. 300.000.000. En tous cas, nous l'avons trouvée indiscutable à 1 p. 150.000.000. L'ésérine nous a paru agir à peu près aux mêmes doses ; de toutes façons, action excessivement nette à partir de 1 p. 80.000.000. On pourrait donc dire, — et c'est un point sur lequel on n'insiste peut-être pas assez — que, renversant le problème en utilisant une quantité connue d'acétylcholine, la préparation pourrait servir à déceler le sensibilisateur.

Influence du temps de contact. — Sur plusieurs préparations étalonnées par l'acétylcholine à 1 p. 400.000, nous avons cherché ce que devenait le pouvoir potentialisateur de la dihydrooxycodéinone à 1 p. 20.000.000, suivant que celle-ci était mise au contact de la sangsue, au même instant que l'acétylcholine (zéro minute) ou 1, 3, 6, 15 et 30 minutes *avant* l'addition d'acétylcholine.

En prenant comme unité la grandeur de la réponse déterminée par l'acétylcholine seule et en faisant la moyenne de toutes nos expériences, nous voyons que la sensibilité de la préparation est multipliée par 4,8, si l'eucodal est mis en même temps que l'acétylcholine ; par 6,6 si l'eucodal est ajouté 1 minute avant l'acétylcholine ; 12,5 pour 3 minutes ; 15,2 pour 6 minutes ; 19,1 pour 15 minutes et 33,1 pour 30 minutes.

Nous pouvons donc en déduire que la *sensibilisation par l'eucodal est notablement augmentée par l'allongement du temps de contact*. Toutefois, cette augmentation qui est très rapide quand le temps de contact est porté de quelques secondes à 1 ou 3 minutes devient beaucoup plus lente quand ce temps passe de 3 à 6, 15 ou 30 minutes.

D'autre part, et c'est là semble-t-il un point important, si le pouvoir sensibilisateur est diminué quand l'eucodal

codal n'est ajouté qu'au même instant que l'acétylcholine, *il est encore loin d'être nul*, puisque l'intensité de la réponse témoin est multipliée par 4,8.

Dans toutes les autres expériences, il est entendu que la dihydrooxycodéinone sera employée, sauf mention particulière, six minutes avant l'addition d'acétylcholine.

Relation entre la dose de sensibilisateur et le degré de sensibilisation. — Il est évidemment difficile par la méthode de la sangsue de déterminer de façon précise le rapport qui existe entre la concentration en sensibilisateur et l'intensité de la sensibilisation. En tenant compte de toute une série de dosages, au cours desquels, sur des préparations différentes (mais réagissant de façon sensiblement identique à l'acétylcholine à 1 p. 400.000 employée seule) nous avons fait agir l'eucodal de 1 p. 320.000.000 à 1 p. 1.000.000, nous pouvons dire que : vis-à-vis d'une solution d'acétylcholine à 1 p. 400.000, la sensibilité de la préparation a été multipliée par 3,5 en présence d'eucodal à 1 p. 40.000.000 ; par 24 en présence d'eucodal à 1 p. 4.000.000 ; par 35 en présence d'eucodal à 1 p. 1.000.000.

Si nous exprimons ces résultats en γ , on voit que l'action de 50 γ d'acétylcholine est multipliée par

35,	en présence de	20 γ d'eucodal
24,	—	5 —
6,	—	0,5 —
3,5	—	0,25 —

En d'autres termes on peut dire, de façon approximative, que la sensibilisation est multipliée par 100, quand la concentration du sensibilisateur est multipliée par 10.

Bien que, — comme il fallait d'ailleurs s'y attendre, — le degré de sensibilité augmente moins vite que la concentration du sensibilisateur, nous croyons cependant que l'on peut trouver là une application pratique

intéressante. Si l'on se rappelle, en effet, que l'action propre de l'eucodal sur le tonus de la musculature de sangsue n'est pas plus intense à 1 p. 2.000, qu'elle ne l'est déjà, dans les mêmes conditions, pour l'ésérine à 1 p. 500.000, on voit qu'il sera possible de pousser plus loin la concentration du sensibilisateur, dans le cas de l'eucodal que dans le cas de l'ésérine, et de déceler peut-être ainsi par conséquent, des doses plus faibles d'acétylcholine.

Intensité de la fixation du sensibilisateur. — La recherche de l'intensité avec laquelle le sensibilisateur se fixe à la préparation est importante, car il est utile de connaître dans quelles conditions le muscle est capable de récupérer sa sensibilité initiale.

Avec la morphine comme sensibilisateur à 1 p. 500.000 (40 γ pour 20 cm³ de Ringer) vis-à-vis d'acétylcholine à 1 p. 400.000 (50 γ pour 20 cm³), E. KAHANE et J. LÉVY (1939) ont montré qu'il suffisait d'une seule série de lavages pour que la préparation reprenne sa sensibilité initiale. Au contraire, utilisant l'ésérine comme sensibilisateur, à la dose de 1 p. 400.000 (50 γ pour 20 cm³), ils ont montré que malgré plusieurs séries de lavages répétés, il était difficile de faire récupérer au muscle sa sensibilité première. Comparant donc de ce point de vue l'action sensibilisante de la morphine et celle de l'ésérine, ils soulignent que, avec la morphine, comme avec l'ésérine, il se produit un certain degré d'inhibition de l'estérase émise dans le liquide d'immersion du muscle de sangsue ayant subi l'action de la morphine. Ce liquide récupère par dialyse l'activité enzymatique habituelle du liquide d'immersion du muscle normal. Contrairement au liquide d'immersion du muscle ésériné de sangsue, qui ne récupère une activité normale qu'après une dialyse très prolongée, le liquide d'im-

mersion du muscle morphiné la récupère rapidement. Contrairement à ce qui se passe aux dépens d'un muscle éseriné, l'émission d'estérase « inhibée » à partir d'un muscle morphiné est très fugace. L'émission d'estérase « non inhibée » coïncide avec le retour du muscle à sa sensibilité initiale, retour beaucoup plus rapide d'ailleurs pour le muscle morphiné que pour le muscle éseriné.

Dans le même sens, nous avons entrepris l'examen du mode de fixation de l'eucodal. De la sorte, nous avons pu voir qu'après action de la dihydrooxycodéinone à 1 p. 160.000.000 ; 1 p. 80.000.000 ; 1 p. 40.000.000 et même parfois 1 p. 20.000.000, une seule série de 3 lavages (avec chaque fois un temps de contact de une minute) était suffisante pour restituer au muscle sa sensibilité initiale. (Fig. 10).

A 1 p. 10.000.000, deux séries de lavages sont indispensables et à 1 p. 1.000.000, nous n'avons pas réussi avec six séries identiques à retrouver, — même de loin, — la première sensibilité.

Avec l'éserine, qu'avons-nous trouvé ? — Tout d'abord, il est facile de confirmer les résultats de E. KAHANE et J. LÉVY et de voir qu'aux doses utilisées par ces auteurs (50 γ pour 20 cm³, soit 1 p. 400.000) il faut un très grand nombre de lavages pour restituer au muscle sa première sensibilité. Nous avons voulu examiner le problème de façon détaillée, en partant des concentrations actives les plus faibles et en opérant, à chaque fois, des séries de lavages identiques à celles de l'eucodal.

Dans ces conditions,* et en prenant toujours pour témoin la réponse musculaire à une concentration d'acétylcholine de 1 p. 400.000, nous avons pu mettre en évidence les deux phénomènes suivants :

Premièrement, au point de vue de l'intensité de sensibilisation, il y a une différence très notable avec l'eu-

codal. En effet, en élevant la concentration en eucodal, nous avons obtenu, comme nous l'avons dit plus haut, une sensibilisation de plus en plus grande et cette augmentation s'est faite de façon véritablement progressive. Au contraire, avec l'ésérine, il existe dans beaucoup de cas un espèce de seuil placé habituellement entre 1 p. 40.000.000 et 1 p. 20.000.000 ou parfois entre 1 p. 80.000.000 et 40.000.000. Ainsi dans une expérience, en présence d'ésérine à 1 p. 80.000.000, la réaction à l'acétylcholine à 1 p. 400.000 était seulement 30 p. 100 plus forte qu'avec l'acétylcholine pure. En présence d'ésérine à 1 p. 40.000.000 la réaction pouvait être considérée comme multipliée par 3. Nous avons trouvé d'ailleurs des différences beaucoup plus grandes dans des expériences où le fait de passer d'une concentration en ésérine à 1 p. 40.000.000 à une concentration de 1 p. 20.000.000 produisait une réaction 5 fois, 6 fois (ou même davantage) plus considérable que la précédente. Nous n'avons rien trouvé de semblable avec l'eucodal.

Deuxièmement, en ce qui concerne l'intensité de fixation, non seulement elle est très grande à 1 p. 400.000, comme l'avaient déjà vu KAHANE et J. LÉVY, mais elle est encore fort considérable à des doses beaucoup plus faibles, 1 p. 20.000.000 ou même 1 p. 40.000.000. A ces dilutions, la fixation est encore si forte que, après une série de lavages, la réponse à l'acétylcholine est au moins aussi intense que celle qui avait immédiatement suivi l'addition d'ésérine, et que, même après 5 ou 6 séries de lavages, on n'arrive pas à retrouver la sensibilité initiale.

Ces faits sont donc d'accord avec l'exposé de KAHANE et J. LÉVY et l'on a même l'impression que fixation et sensibilisation vont de pair pour l'ésérine, alors que pour l'eucodal nous avons toute une série de doses très actives (1 p. 20.000.000 par ex.) après l'action desquelles une seule série de lavages suffit pour ramener la sensibilité initiale.

Pouvoir potentialisateur comparé. — Il nous a paru qu'il y aurait quelque intérêt à comparer les pouvoirs potentialisateurs de l'eucodal et de l'ésérine. Pour ce faire, nous avons utilisé des concentrations de 1 p. 40.000.000 de manière à rester dans la zone où après action du sensibilisateur, la préparation peut habituellement, par lavages, récupérer sa première sensibilité. Voici deux protocoles d'expériences :

A. Muscle dorsal antérieur énérvé, mais non ésériné. Etalonnage à l'acétylcholine à 1 p. 400.000. Lavage. Ésérine à 1 p. 40.000.000 pendant 6 minutes et acétylcholine. Lavage. Etalonnage. Eucodal à 1 p. 40.000.000, 6 minutes et acétylcholine. (La contraction en présence d'eucodal a été 50 p. 100 plus forte qu'en présence d'ésérine).

B. Etalonnage à l'acétylcholine à 1 p. 400.000. Lavage. Eucodal à 1 p. 40.000.000, 6 minutes et acétylcholine. Lavage. Etalonnage. Lavage, Ésérine à 1 p. 40.000.000, 6 minutes et acétylcholine. Lavage. Etalonnage. Lavage, Eucodal à 1 p. 40.000.000, 6 minutes et acétylcholine (fig. 11).

En nous appuyant sur ces deux expériences, et notamment sur la seconde, nous pouvons dire que, — aussi bien si l'eucodal agit avant l'ésérine que s'il agit après — son pouvoir potentialisateur semble, dans les conditions précitées, notablement supérieur à celui de l'ésérine.

Synergie ésérine-eucodal. — D'une part, nous avons constaté que ni l'ésérine, ni l'eucodal, n'ont d'action antagoniste vis-à-vis d'une préparation déjà sensibilisée par l'autre substance, d'autre part, nous verrons que l'ésérine et l'eucodal semblent agir, — au moins dans une large mesure — par un mécanisme différent. Il nous a donc paru logique de chercher à savoir, si dans certaines conditions, la sensibilisation déterminée par le mélange des deux drogues ne serait pas supérieure à celle déter-

minée par l'un ou l'autre des sensibilisateurs, chacun d'eux étant employé de telle sorte que la concentration en sensibilisateurs reste toujours la même. Les expériences que nous avons entreprises à ce sujet ne sont malheureusement pas encore assez nombreuses pour nous permettre d'aboutir à une opinion catégorique.

Conclusions

Nous avons étudié l'action de la dihydrooxycodéinone sur l'animal et divers organes isolés, notamment le muscle de sangsue. Sur cette préparation l'eucodal n'a, par lui-même, d'action tonique qu'à une concentration très forte (1 p. 2.000). Considérant ensuite les modalités de son pouvoir potentialisateur vis-à-vis de l'acétylcholine, nous avons cherché à déterminer le seuil d'action, l'influence du temps de contact, le rapport existant entre la concentration du sensibilisateur et le degré de la sensibilisation, l'intensité de fixation de l'eucodal. Toutes ces recherches ont été faites, chaque fois qu'il a été possible, par comparaison avec l'ésérine et permettent de conclure, en définitive, que le pouvoir potentialisateur de la dihydrooxycodéinone est, pour le moins, égal à celui de la physostigmine et se manifeste, vis-à-vis d'une solution d'acétylcholine à 1 p. 400.000, à partir de 1 p. 150.000.000.

L'intensité avec laquelle le sensibilisateur demeure fixé à la préparation, malgré les lavages, est beaucoup plus grande pour l'ésérine que pour l'eucodal. Alors que, pour l'ésérine, fixation et sensibilisation semblent aller de pair, il existe pour l'eucodal des doses très actives, qu'une seule série de lavages suffit à enlever.

Ainsi se pose, dès à présent, la question d'un mécanisme différent pour la sensibilisation par l'ésérine et la sensibilisation par l'eucodal.

GRAPHIQUES

—————

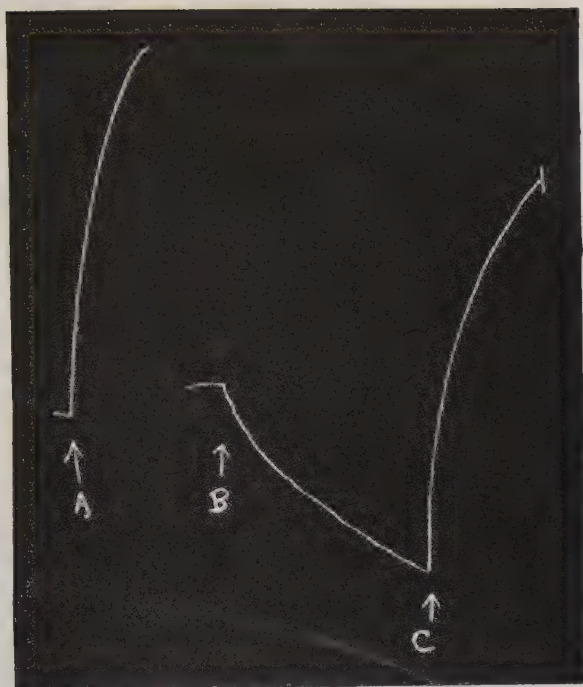


FIG. 1

MUSCLE DE SANGSUE ENERVE

En A, acétylcholine (1 p. 40.000.000), après éserine

En B, héroïne (1 p. 40.000)

En C, acétylcholine (1 p. 40.000.000), après éserine

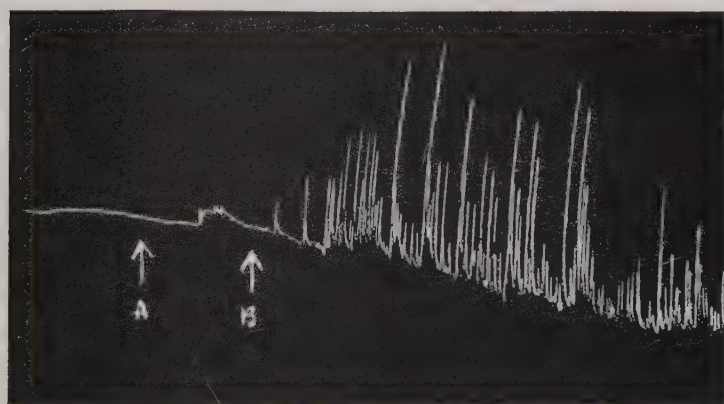


FIG. 2

MUSCLE DE SANGSUE ENERVE

En A, sulfate de quinidine 1 p. 100.000

En B, sulfate de quinidine 1 p. 50.000



FIG. 3

MUSCLE DE SANGSUE ENERVE

En A, sulfate de spartéine 1 p. 20.000

En B, sulfate de spartéine 1 p. 10.000

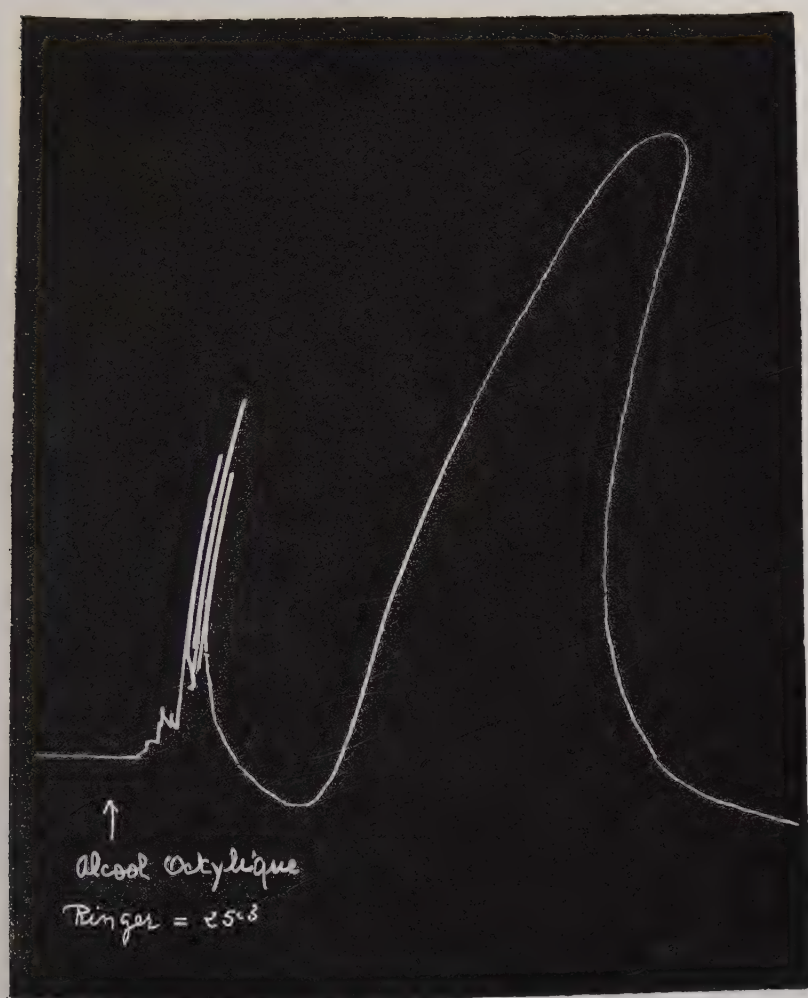


FIG. 4

MUSCLE DE SANGSUE ENERVE

Solution d'alcool octylique à 1 p. 3.000

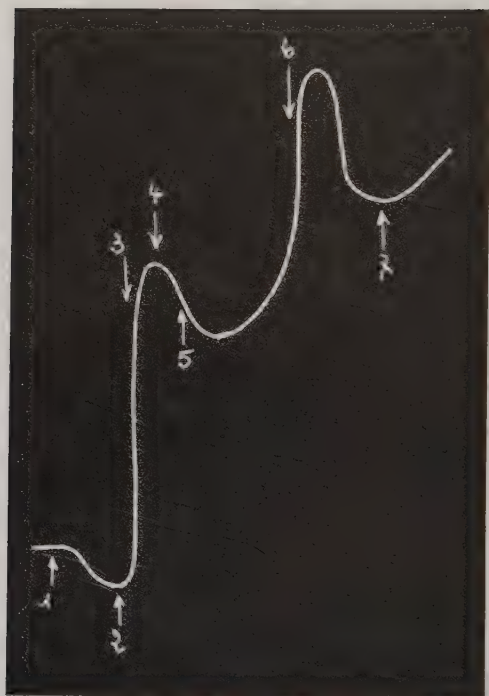


FIG. 5

MUSCLE DE SANGSUE ENERVÉ

Liquide de Ringer
traversé par un courant régulier d'oxygène

Inscription sur un cylindre à marche très lente
(vitesse tangentielle 3 cm. à l'heure)

En 2 éserine-acétylcholine (1 p. 40.000.000)

De 1 à 3 ; de 4 à 5 ; de 6 à 7 ; passage d'un
courant de CO_2 ;

De 3 à 4 ; de 5 à 6 ; de 7 à la fin ; interrup-
tion du courant de CO_2 .

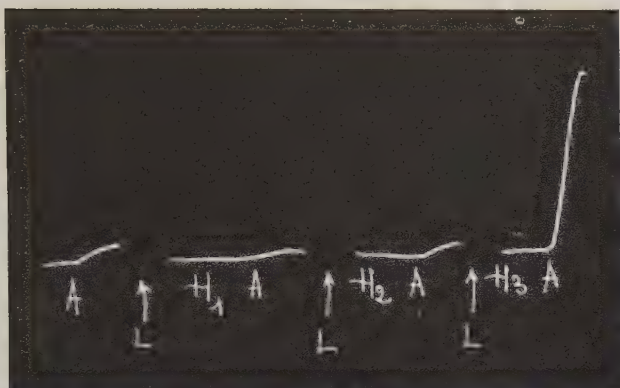


FIG. 6

MUSCLE ENERVE DE SANGSUE

A : acétylcholine à 1 p. 400.000,
H₁ : héroïne à 1 p. 50.000,
H₂ : héroïne à 1 p. 25.000,
H₃ : héroïne 1 p. 1.000,
(6 minutes avant l'acétylcholine)
L : lavages.

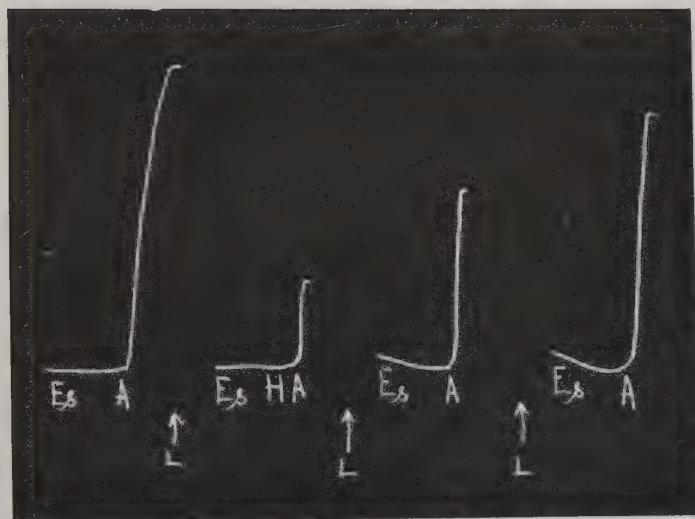


FIG. 7

MUSCLE ENERVE DE SANGSUE

Es : éserine à 1 p. 400.000,
A : acétylcholine à 1 p. 40.000.000,
(6 minutes après l'éserine)
H : héroïne à 1 p. 200.000,
(1 minute avant l'acétylcholine)
L : lavages.

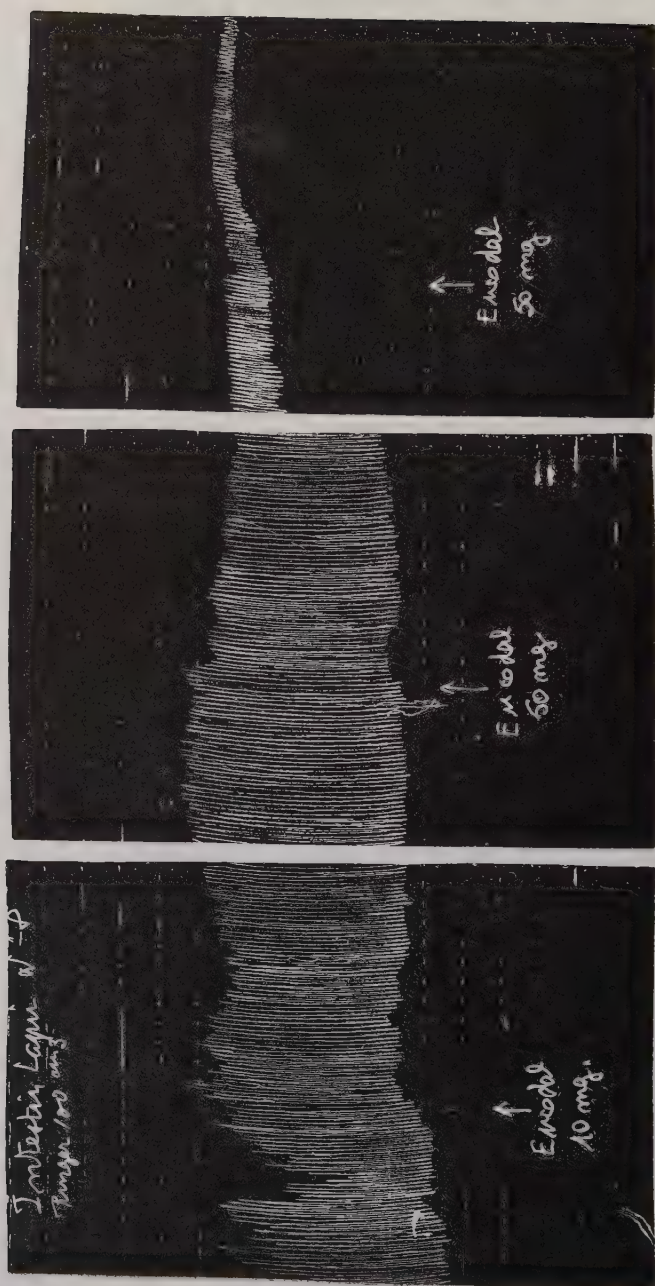


FIG. 8

INTESTIN ISOLÉ DE LAPIN

De gauche à droite : Actions successives de 10 ; 50 et 50 mg d'eucodal ajoutés aux 100 cm³ de la solution de Ringer

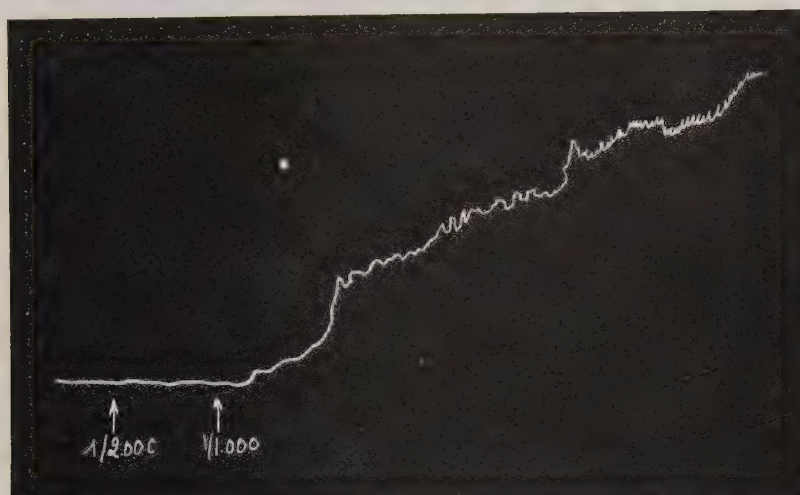


FIG. 9
MUSCLE DE SANGSUE ENERVE
Action de l'eucodal à fortes concentrations

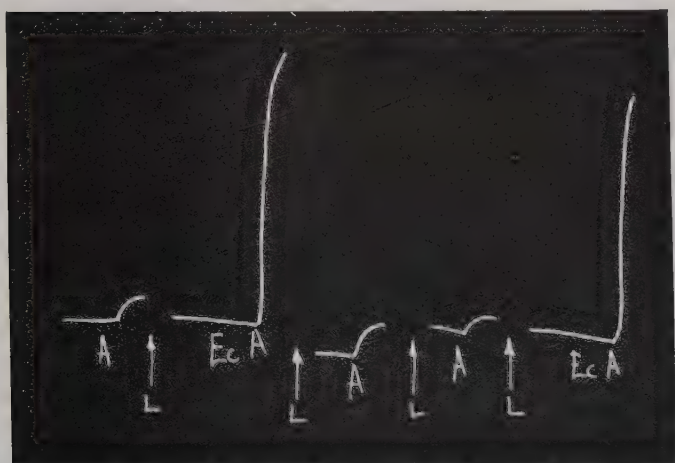


FIG. 10
MUSCLE ENERVE DE SANGSUE
A : acétylcholine à 1 p. 400.000,
Ec : eucodal à 1 p. 20.000.000,
L : lavages.

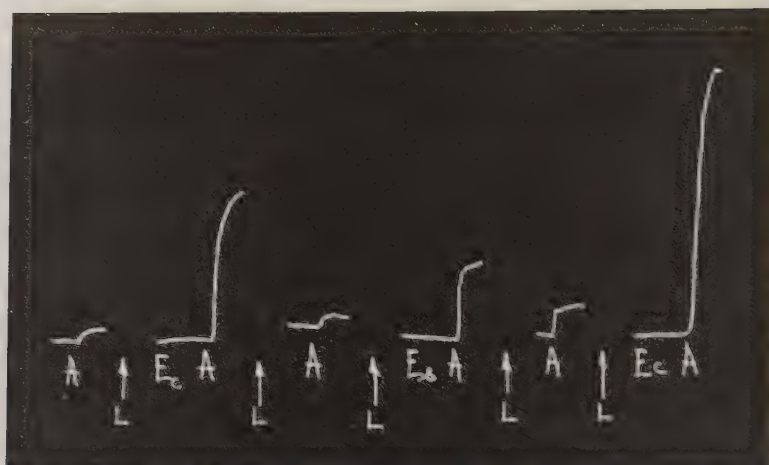


FIG. 11

MUSCLE NERVE DE SANGSUE

A : acétylcholine à 1 p. 400.000.
 Ec : eucodal à 1 p. 40.000.000,
 Es : éserine à 1 p. 40.000.000,
 L : lavages.

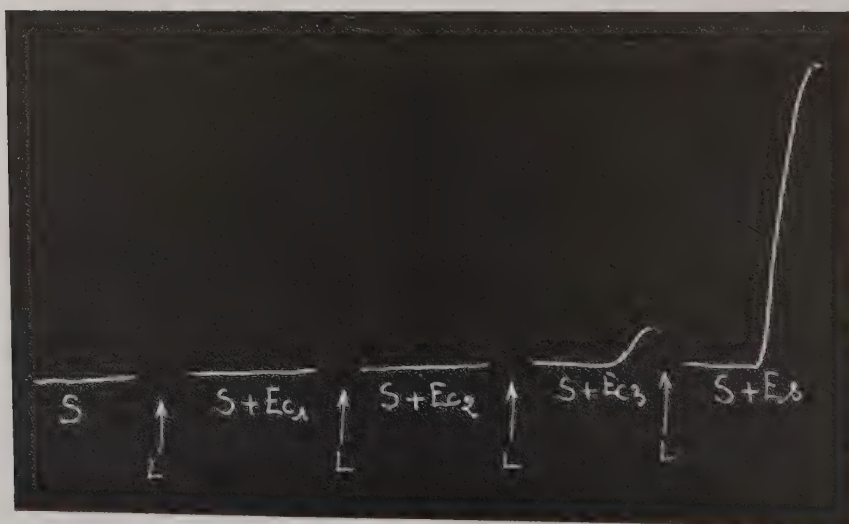


FIG. 12

MUSCLE NERVE ET ESERINE DE SANGSUE

2 cm³ de sérum de cheval (S) sont additionnés d'eucodal à 1 p. 20.000 (S+Ec₁), d'eucodal à 1 p. 1.000 (S+Ec₂), d'eucodal à 1 p. 500 (S+Ec₃) ou d'éserine à 1 p. 20.000 (S+Es).

Après 10 minutes on ajoute dans chaque tube 1 cm³ d'acétylcholine à 1 p. 10.000. On laisse la réaction se poursuivre 60 secondes ; on l'arrête à ce moment par addition de 7 cm³ d'éserine à 1 p. 20.000 et on pratique le dosage (voir ci-dessus) de l'acétylcholine restant.

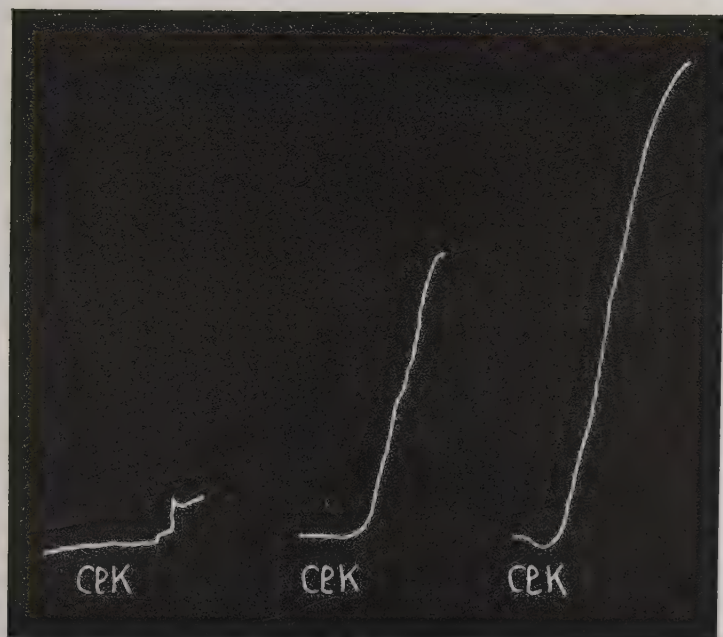


FIG. 13

MUSCLE DE SANGSUE ENERVÉ

Addition de 2 cm³ de ClK isotonique à 20 cm³ de Ringer. Enregistrement pendant 10 minutes de la contraction produite. Entre chaque addition faite dans des conditions identiques, la préparation a été soigneusement lavée.

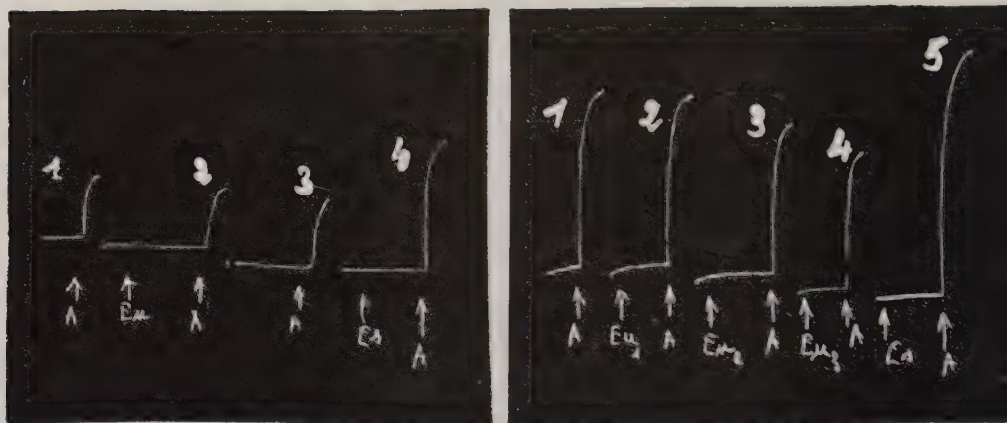


FIG. 14

MUSCLES RECTUS ABDOMINALIS DE GRENOUILLE

A gauche :

1. Etalonnage avec acétylcholine 1 p. 2.000.000 ;
2. Même dose d'acétylcholine en présence d'eucodal (1 p. 40.000) pendant 6 minutes ;
3. Etalonnage ;
4. Même dose d'acétylcholine en présence d'éserine (1 p. 100.000) pendant 6 minutes.

A droite :

1. Etalonnage avec acétylcholine 1 p. 2.000.000 ;
2. Même dose d'acétylcholine en présence d'encodal (1 p. 80.000) pendant 6 minutes ;
3. *Idem* après eucodal (1 p. 40.000) ;
4. *Idem* après eucodal (1 p. 20.000) ;
5. *Idem* après éserine (1 p. 100.000).



FIG. 15

VENTRICULES ISOLES D'*HELI*X *POMATIA*

Ringer-Cardot avec oxygène. Action de l'acétylcholine à 1 p. 20.000.000 sur des ventricules éserinés à 1 p. 200.000.

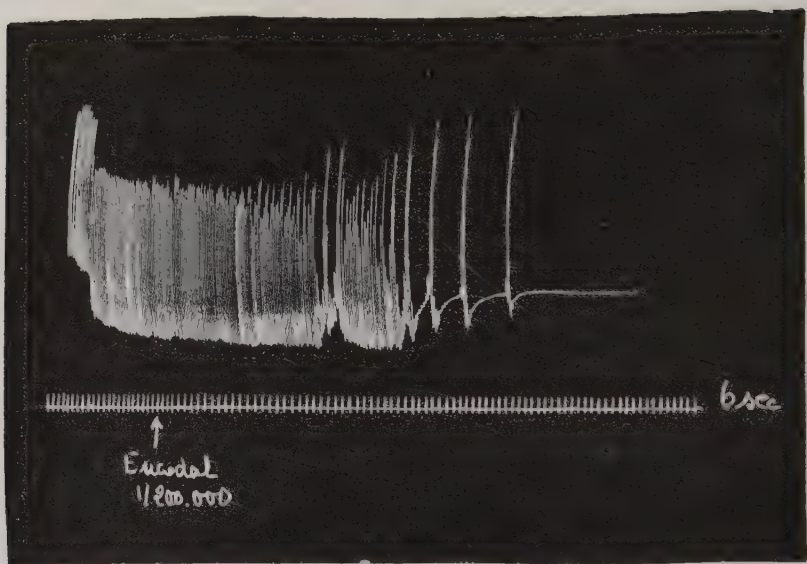


FIG. 16

VENTRICULE ISOLÉ D'*HELIX POMATIA*

Ringer-Cardot avec oxygène ; action propre de l'eucodal à 1 p. 200.000.
La chute de tonus (à gauche) correspond à la mise en train de l'oxygène.

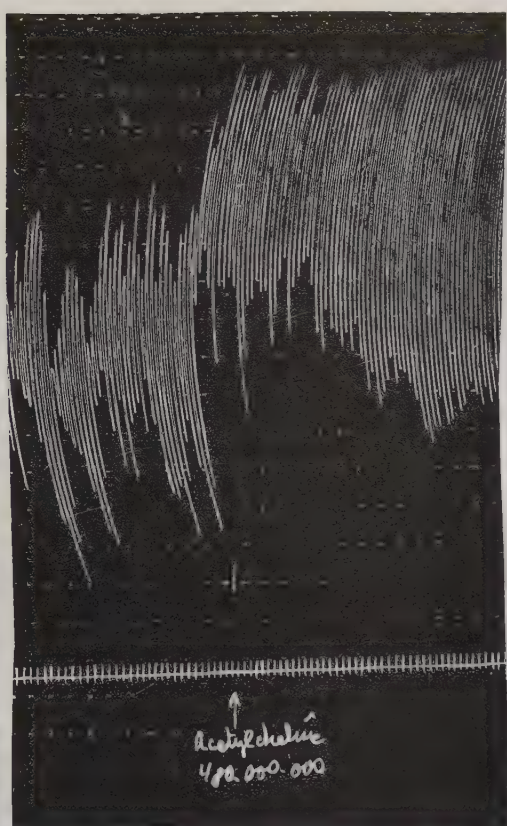
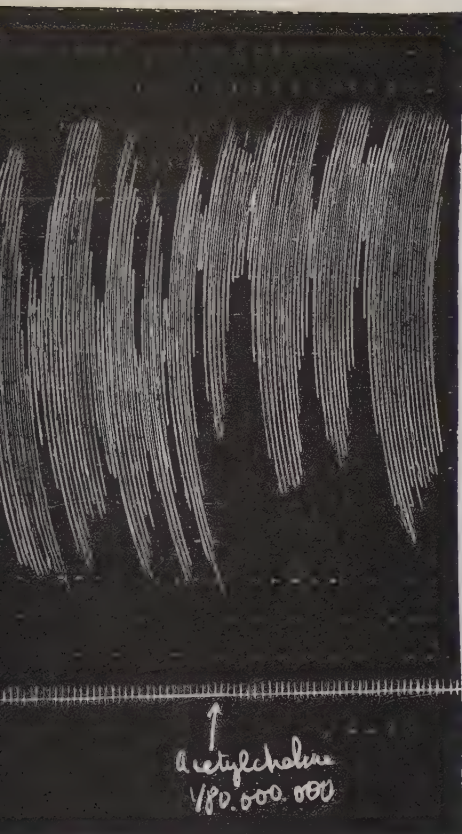


FIG. 17

INTESTIN ISOLÉ DE LAPIN

Action de la même dose d'acétylcholine (à 1 p. 80.000.000) avant et après addition d'eucodal (à 1 p. 20.000).

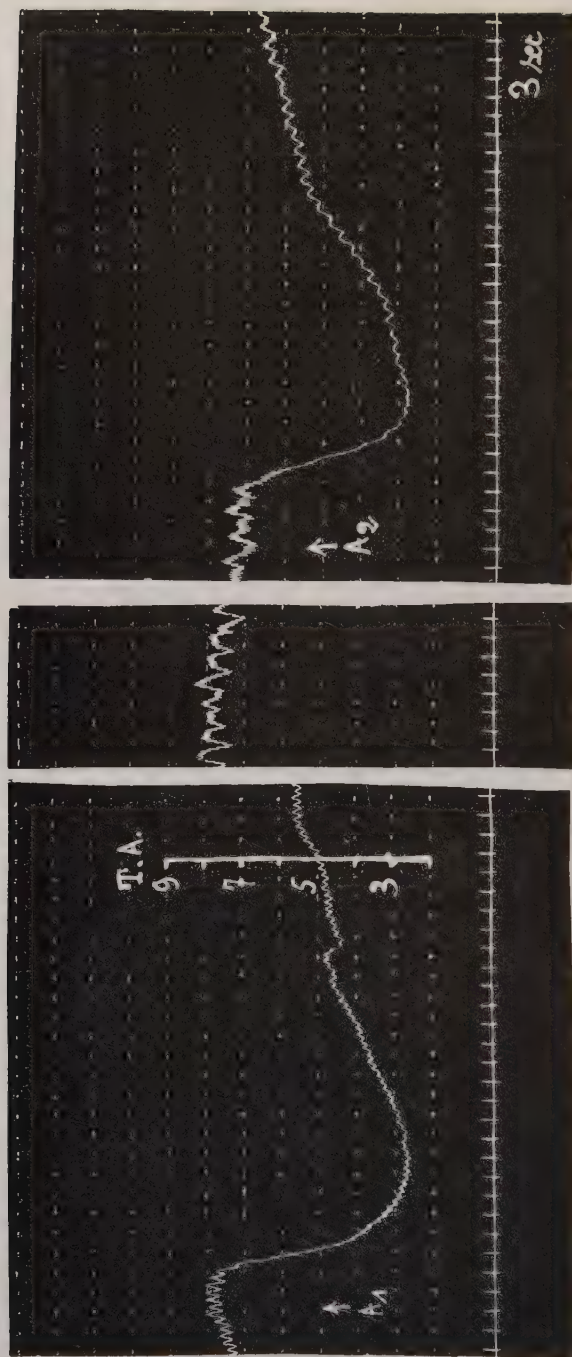


FIG. 18

LAPIN MALE DE 3.300 KG.

Anesthésie par injection intraveineuse de 1.5 gr. d'uréthane

De haut en bas, tension artérielle prise à la carotide et temps de 3 en 3 secondes.

A gauche, injection intraveineuse de 2/100^e de mmgr. d'acétylcholine.

Au milieu, tension artérielle 5 minutes $\frac{1}{3}$ après l'injection d'acétylcholine et 1 minute $\frac{1}{2}$ après injection intraveineuse de 0,5 mg. d'eucodal (par kg. de poids).

A droite, 3 minutes après l'injection d'eucodal nouvelle administration d'acétylcholine identique à la première.

CHAPITRE IV

Le mécanisme de l'action sensibilisante de la dihydrooxycodéinone

Poursuivant le parallèle déjà ébauché entre le sensibilisateur classique (l'ésérine) et le sensibilisateur découvert par nous (l'eucodal), nous commencerons ce chapitre consacré à la recherche du mécanisme d'action de la dihydrooxycodéinone, par un rappel du mécanisme d'action de l'ésérine.

Le mécanisme de sensibilisation par l'ésérine

On sait qu'il existe dans tous les tissus renfermant de l'acétylcholine en quantité notable, un ferment hydrolysant. DALE, le premier, en 1914, suggéra l'intervention d'une action fermentaire pour expliquer la destruction

de l'acétylcholine dans les tissus. *In vivo*, HUNT (1915) avait remarqué la disparition rapide de l'acétylcholine injectée dans le torrent circulatoire. LÆWI et NAVRATIL (1926), ENGELHARDT et LÆWI (1930) démontrèrent plus tard la réalité de ce mécanisme enzymatique : *in vitro*, ils virent les tissus de grenouille (cœur), le sérum, inactiver très vite l'acétylcholine ; le chauffage à 56° effectué préalablement, l'irradiation ultra-violette empêchaient cette action, de même que l'addition d'ésérine ou d'ergotamine. Ces données fondamentales furent encore complétées par de nombreux auteurs : PLATTNER et GALEHR (1928), PLATTNER et HINTNER (1930), MATTHES (1930), STEDMAN (1931), AMMON (1933), AMMON et VOSS (1935).

STEDMAN et EASSON (1932), étudiant le phénomène du point de vue chimique, ont montré qu'il s'agissait d'une estérase spécifique distincte, d'une part de la lipase, d'autre part des estérases agissant sur la tributyrine ou le butyrate de méthyle.

E. KAHANE et J. LÉVY (année 1936 et suivantes) étudièrent l'activité cholinestérasique de divers tissus et découvrirent de nombreux inhibiteurs. BACQ (1936), GAUTRELET et son Ecole (année 1935 et suivantes), JULLIEN et ses collaborateurs étendirent ces recherches aux invertébrés, tandis que NACHMANSOHN (1938), MARNAY (1937), démontrèrent l'intensité élective de cette action enzymatique dans le système nerveux central et dans les terminaisons nerveuses musculaires.

D'un autre côté, la réaction inverse (re-synthèse de l'acétylcholine par la cholinestérase) était démontrée dans une certaine mesure par ABDERHALDEN et PAFFRATH (1925), puis par AMMON et KWIATKEWSKI (1934).

On voit donc qu'une substance capable de bloquer ce ferment et d'empêcher l'hydrolyse, qu'une *substance antiestérasique*, sera une substance favorisant l'action de l'acétylcholine.

Dans quelle mesure cette donnée peut-elle s'appliquer au cas de l'ésérine ?

Pour fournir une réponse définitive, deux problèmes préalables se posent : *l'ésérine est-elle douée d'un fort pouvoir anti-estérasique ? — le muscle de sangsue renferme-t-il beaucoup de cholinestérase ?*

Il est des substances qui sont sans influence sur la vitesse d'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum : ClNa , Cl K , SO_4 , Mg , CH_3 , COO Na , chlorhydrate de betaine à 10 p. 100, la glycérine à 25 p. 100 (E. KAHANE et J. LÉVY, 1936). Mais un grand nombre ont été reconnues inhibitrices : l'ésérine et l'ergotamine (LÆWI et NAVRÁTIL, 1926) ; la pilocarpine (BERNHEIM, 1936) ; le fluorure de sodium (MATTHES, 1930) ; la quinine, l'atoxyl (PLATTNER et HINTNER, 1930) ; l'aldéhyde formique (CORTEGGIANI, GAUTRELET, HALPERN et SERFATY, 1936) ; l'histamine (BAYER et WENSE, 1936) ; la nicotine (MATTHES, 1930) ; l'adrénaline à concentration élevée (TSUSI, 1932) ; la muscarine, la prostigmine, le tartrate d'ergotamine, la quinine, la pilocarpine et même, à dose assez forte, l'atropine (AMMON, 1933) ; dans l'ordre décroissant : ésérine, génésérine, morphine, prostigmine, cyanure de potassium, caféine, metacresol, orthocresol, acide oxalique, acide citrique, éphédrine, antipyrine, chlorure de β -méthylcholine, chlorure de calcium, urée, hexaméthylène-tetramine, bromure de bromocholine, acétone, alcool (E. KAHANE et J. LÉVY, 1936) ; la morphine (BERNHEIM, 1936 ; KAHANE et J. LÉVY, 1937) ; l'apomorphine (BERNHEIM, 1936) ; l'uréthane (PLATTNER et GALEHR, 1928) et un grand nombre de dérivés synthétique de l'uréthane, dont l'un, le « meta-compound » ou ester méthyl-carbamique du m-hydroxyphenyltriméthylammonium, iodure, de STEDMAN (1931), posséderait un pouvoir antiestérasique dix fois plus fort que celui de l'ésérine.

Mais la liste de ces substances n'est pas close. Et tout

récemment (1939), plusieurs auteurs ont repris en main cette étude. NACHMANSOHN et LEDERER, par une méthode chimique, montrent que la cholinestérase extraite de l'organe électrique de la Torpille (tissu le plus riche en estérase de tous ceux examinés par MARNAY et NACHMANSOHN) est inhibée par les substances susceptibles de réagir plus ou moins spécifiquement avec des groupes SH (iode, cuivre, acide maleique, alloxane). Dans un travail ultérieur, NACHMANSOHN signale encore l'action antiestérasiqne très forte de la strychnine, celle de la prostigmine, nicotine, pilocarpine, fluorure, quinine.

Le fait que l'on trouve parmi les inhibiteurs de la choline, la neurine, le bromure de triméthylammonium, l'iodure de tétraméthylammonium, le bleu de méthylène, a amené A. KASWIN à rechercher s'il y avait une relation entre la propriété anticholinestérasiqne de ces corps et la présence de la fonction ammonium quaternaire. Il a établi que l'iodométhylation produisait une augmentation notable du pouvoir antiestérasiqne dans le cas de l'adrénaline, de l'atropine et de l'urotropine dont l'action inhibitrice est normalement très faible, augmentation moins importante dans le cas de la spartéine normalement assez active et nulle dans le cas de la strychnine qui possède une action inhibitrice élevée.

Cependant, comme le remarque KASWIN lui-même, si la présence d'une fonction ammonium quaternaire paraît impliquer l'existence, à un degré variable, d'un pouvoir anticholinestérasiqne, le fait ne saurait donner l'explication du mécanisme d'action des inhibiteurs de la cholinestérase en général ; de nombreux corps agissant comme tels, notamment l'ésérine au premier chef, ne possèdent pas de groupement ammonium quaternaire.

Enfin, J. GAUTRELET et H. SCHEINER mettant à profit le phénomène (décrit par SCHEINER) suivant lequel la vitesse de décontraction d'un muscle droit de grenouille après acétylcholine est proportionnelle au titre cholines-

térasique du bain de Ringer, ont repris, par cette nouvelle méthode, la détermination du pouvoir antiestérasique de toute une série de substances.

Les principales drogues étudiées furent les suivantes :

Substances anticholinestérasiques	Valeur du pouvoir anticholines- térasique par rapport à l'ésérine = 100
Esérine	100
Prostigmine	100
Bleu de méthylène.....	30
Phénosafranine	30
Rouge neutre.....	30
Génésérine	25
Sulfate de quinine.....	3
Thionine	0,6
Tartrate d'ergotamine.....	0,5
Chlorhydrate d'adrénaline.....	0,3
Chlorhydrate de choline.....	0,3
Pilocarpine	0,3
Chlorhydrate de morphine.....	0,2
Fluorure de sodium.....	0,15
Hectine	0,05
Cortine	?
Uréthane	0
Colchicine	0
Cardiazol	0
Cacodylate de sodium.....	0
Novarsénobenzol	0
Chlorure de potassium.....	0
Chlorure de calcium.....	0
Oxalate de sodium.....	0

Bien entendu, les substances ayant une action propre sur le muscle indicateur ne sauraient être testées par cette méthode.

De ce long exposé, nous retiendrons, avant tout,

l'action antiestérasique si marquée de l'ésérine. AMMON et BERNHEIM ont établi qu'une concentration en ésérine de 0,025 mg. par litre inhibait encore l'hydrolyse fermentaire de l'acétylcholine dans la proportion de 50 p. 100. GAUTRELET et SCHEINER ont vu que, toutes les autres conditions restant identiques, une concentration de 0,01 mg. p. 100 d'ésérine dans le bain suffit pour imposer un retard de 100 p. 100 à la décontraction du muscle ; d'autre part, il faut dans les mêmes conditions, une concentration de 3,5 mg. p. 100 de pilocarpine pour imposer un retard analogue.

L'action antiestérasique de l'ésérine est donc intense ; est-elle suffisante pour expliquer à elle seule le mécanisme de sensibilisation du muscle de sangsue par l'ésérine vis-à-vis de l'acétylcholine ?

Examinons *l'activité cholinestérasique du muscle de sangsue*. Comme le fait remarquer E. CORTEGGIANI (1938) — qui avec son Maître GAUTRELET et divers collaborateurs ont particulièrement travaillé cette question, — l'acétylcholine à la concentration de 1 p. 1.000.000 n'ayant aucune action sur le muscle de sangsue non ésésiné, nous pouvons nous attendre à trouver pour ce muscle un pouvoir cholinestérasique très marqué. De fait, KAHLSON et UVNAS (1935) ont signalé la présence de cholinestérase. Un peu plus tard, GAUTRELET et son Ecole (1936) ont pu indiquer que le muscle de sangsue broyé et finement divisé détruisait (5 cm³ d'extrait étant en contact avec 1 cm³ d'acétylcholine à 1 p. 10.000) 50 p. 100 d'acétylcholine en 15 sec., 75 p. 100 en 20 sec., 90 p. 100 en 30 sec. Mais *si le pouvoir estérasique du muscle de sangsue est relativement grand lorsque le muscle est broyé, il n'en est pas de même avec le muscle intact*. Si l'on ajoute au bain de Ringer (50 cm³) renfermant le muscle de sangsue, 10 γ d'acétylcholine, l'on n'obtient après 25 minutes qu'une destruction de 50 p. 100 de cette substance. Ce fait a été vérifié par E. KAHANE et J.

LÉVY (1937) et ces auteurs admettent que ce n'est pas en protégeant l'acétylcholine du bain contre l'estérase susceptible de diffuser du muscle de sangsue que se manifeste l'action de l'ésérine, mais en inhibant les *estérases tissulaires* et en permettant à l'acétylcholine d'atteindre à une concentration suffisante les cellules sensibles.

D'autre part, si la sensibilisation par l'ésérine est due à la seule action anticholinestérasique de cette substance, il doit exister un rapport constant entre le coefficient d'hydrolyse et le coefficient de sensibilisation des divers esters de la choline ; cette étude a été faite par E. KAHANE et J. LÉVY (1937). Ces auteurs, dans un travail consacré à la sensibilisation par l'ésérine des ammoniums quaternaires à fonction ester ont étudié l'hydrolyse, par les muscles broyés de sangsue et de grenouille, des esters suivants : formylcholine, acétylcholine, ester éthylique de la bétaine, benzoylcholine, ester bromhydrique de la choline, ester nitrique de la choline, ester acétique de la β -métylcholine, carbaminoylcholine. Ils ont constaté que, en ce qui concerne la sangsue, il y avait un parallélisme étroit entre l'hydrolyse de ces esters par les extraits de muscle et leur sensibilisation par l'ésérine, mais que, en ce qui concerne le muscle grand droit de grenouille, le parallélisme est moins satisfaisant, car les esters nitrique et bromhydrique de la choline et l'ester acétique de la β -métylcholine, qui ne subissent pas l'hydrolyse, sont cependant sensibilisés (faiblement il est vrai) par l'acétylcholine.

Par ailleurs, nous avons cité plus haut un certain nombre de substances susceptibles d'inhiber la cholinestérase, or plusieurs auteurs ont constaté (principalement KAHANE et J. LÉVY pour la génésérine, l'éphédrine, l'antipyrine, la choline) le faible coefficient de sensibilisation, par rapport à celui de l'ésérine, de ces divers inhibiteurs de la cholinestérase, à des doses où ils inhibent la diastase au même degré que l'ésérine. De même KAHANE

SON et UVNAS (1935) après avoir vérifié l'action inhibitrice des fluorures sur l'estérase du muscle de sangsue, montrent que ces substances n'ont aucune action sensibilisatrice sur ce muscle vis-à-vis de l'ésérine. De même encore, si l'on compare la sensibilisation de diverses sortes de muscles par l'ésérine (muscle *rectus abdominalis* et gastrocnémien de grenouille et muscle de sangsue) et leur pouvoir cholinestérasique, on s'aperçoit que le muscle de sangsue, bien qu'étant sensibilisé 1.000 fois plus que les deux autres tests par l'ésérine, possède seulement un pouvoir estérasique 20 à 30 fois plus grand. Quant au muscle *rectus abdominalis* et au gastrocnémien de grenouille dont les activités cholinestérasiques sont semblables, de ces deux tests, un seul, le muscle *rectus*, est sensibilisé par l'ésérine.

Signalons encore, que plus récemment EMMELIN et KAHLSON (1937) ont observé la sensibilisation du muscle de sangsue par la créatine (1 p. 20.000), le cardiazol (1 p. 5.000 à 1 p. 10.000), la coramine (1 p. 1.000 à 1 p. 5.000), substances dont l'action anticholinestérasique n'aurait pas été soulignée.

Il faut bien reconnaître avec GAUTRELET et E. CORTEGGIANI, que toutes ces observations rendent difficiles, dans le mécanisme de sensibilisation, une simple intervention de l'ésérine par blocage de la cholinestérase.

On est donc amené avec ces auteurs à penser que l'ésérine agit en outre par un autre mécanisme. Ce mécanisme différent correspondrait-il à une *augmentation de la perméabilité cellulaire* ? La chose reste à discuter.

Par contre, FUHNER (1918) avait signalé que, en plus de l'action sensibilisante de l'ésérine à la concentration de 1.10^{-6} vis-à-vis de l'acétylcholine, existait une action également sensibilisante de l'ésérine à l'égard du chlorure de baryum (2.10^{-6}), de la nicotine (1.10^{-6}) et plus faiblement à l'égard de la muscarine. Par la suite, MINZ (1932)

constate la sensibilisation de la neurine ; GAUTRELET et E. CORTEGGIANI (1936) celles de la bétaine ($1,10^{-4}$), de la vératrine et du chlorure de potassium. Il est évident qu'aucune de ces substances ne sont touchées par l'ésérine.

Considérant finalement la lenteur des réactions du muscle de sangsue (LAPICQUE, en 1936, a signalé une chronaxie de 15 - 30 ς), GAUTRELET et son Ecole admettent qu'en outre de son action antiestérasique, *l'ésérine est capable d'agir en déterminant une hypersensibilité cellulaire vis-à-vis des substances véatrinisantes ou amphochronotiques à fonction véatrine prédominante*. Ainsi seraient amplifiées les contractures que sont déjà capables de déterminer ces drogues seules sur une préparation non ésérinée, et que l'ésérine est également capable de produire elle-même à dose suffisante.

Le pouvoir anticholinestérasique de la dihydrooxycodéinone

De l'exposé qui précède, il ressort que pour tenter d'expliquer le mécanisme de l'action sensibilisante d'une substance vis-à-vis de l'acétylcholine, la première série de recherches à effectuer doit consister dans l'appréciation de son pouvoir antiestérasique. Pour ce faire, nous avons employé une méthode biologique suivant une technique empruntée à GAUTRELET (1936) : 2 cm³ de sérum de cheval sont additionnés d'une quantité donnée de l'alcaloïde dont on recherche le pouvoir antiestérasique ; après un contact de 10 minutes à la température du laboratoire, on ajoutait au sérum 1 cm³ d'une solution de chlorhydrate d'acétylcholine à 1 p. 10.000. On laisse la réaction se poursuivre pendant 60 secondes ; on l'arrête

à ce moment par addition de 7 cm³ d'une solution de sulfate d'ésérine à 1 p. 20.000. Le dosage de l'acétylcholine restant est ensuite pratiqué sur le muscle de sangsue ésériné. (Fig. 12).

En prenant pour base l'action antiestérasiqne du sulfate d'ésérine dissous dans le sérum à 1 p. 20.000, on constate que pour obtenir des effets analogues avec d'autres alcaloïdes, il faut élever la concentration à 1 p. 100 avec l'héroïne, 1 p. 150 (codéïne), à 1 p. 250 (eucodal), 1 p. 2.000 (apomorphine).

Toutefois, pour pouvoir interpréter ces résultats, il fallait d'abord se mettre à l'abri d'une *cause d'erreur relative à l'action inhibitrice* exercée par ces mêmes alcaloïdes sur une préparation ésérinée et que nous avons antérieurement mentionnée.

Nous avons donc fait une série *d'expériences de contrôle* qui ont consisté à tester sur des muscles ésérinés une solution d'acétylcholine additionnée au préalable d'une certaine quantité de ces alcaloïdes dans des proportions équivalentes aux dilutions ci-dessus, de telle sorte que, finalement, la concentration de ces alcaloïdes au contact de la préparation ésérinée était la même que dans les expériences précédentes. Dans ces conditions, nous n'avons constaté *aucune action inhibitrice*, sauf en ce qui concerne la codéïne.

Nous faisons en effet remarquer que ces expériences de contrôle différaient des expériences précédemment rapportées, sur le pouvoir inhibiteur des alcaloïdes dérivés de la morphine, en ce sens que dans celles-ci, l'alcaloïde était ajouté au Ringer ésériné une minute avant l'acétylcholine et que dans celles-là l'addition d'alcaloïde se faisait simultanément avec celle d'acétylcholine.

Même en laissant à part le cas particulier de la codéïne, nous voyons que nous obtenons encore *une nouvelle classification des mêmes alcaloïdes* précédemment étu-

diés et cette classification nous pouvons la comparer à celle que nous avons déjà établie en nous basant sur leur pouvoir sensibilisateur. Nous constatons alors qu'une substance comme l'apomorphine, par exemple, ayant un pouvoir antiestérasiqne près de 10 fois supérieur à celui de l'eucodal possède un pouvoir sensibilisant près de 1.000 fois inférieur.

Déjà un certain nombre d'auteurs, GAUTRELET et E. CORTEGGIANI, KAHANE et J. LÉVY, avaient souligné la disproportion existant dans certains cas entre l'action potentialisatrice d'une substance (surtout l'ésérine) et son pouvoir antiestérasiqne.

A notre tour, nous présentons une substance : la dihydrooxycodéinone dont *le pouvoir sensibilisateur est de même ordre de grandeur que celui de l'ésérine et dont l'action antiestérasiqne est près de 100 fois plus faible.*

Toutefois, une objection importante pouvait être faite aux expériences précédentes. En effet, nous avons opéré jusqu'ici sur l'estérase du sérum. Mais on peut se demander s'il est légitime de conclure de façon identiqne de l'estérase du sérum à celle de la sangsue.

Nous avons donc été amenés à travailler également sur la cholinestérase du muscle de sangsue. La musculature, préparée suivant la technique habituelle, était broyée finement au mortier avec 20 cm³ de solution de Ringer. On filtrait sur papier avant usage.

L'activité de cet extrait était telle que, dans des conditions identiques à celles du sérum de cheval, 15 à 20 minutes étaient nécessaires pour obtenir la destruction d'une même quantité d'acétylcholine. Or, l'addition à cet extrait de dihydrooxycodéinone à la dose de 1 p. 20.000 protégeait l'acétylcholine avec une efficacité presque aussi grande que celle de l'ésérine à la même concentration.

Il nous a semblé alors que cette différence entre nos

deux séries d'expériences (sérum de cheval et extrait de muscles de sangsue) pouvait donner lieu à une double interprétation :

a) *Origine différente de la cholinestérase* (dans un cas estérase du sérum, dans l'autre estérase du muscle de sangsue). — E. KAHANE et J. LÉVY (1937) ont constaté que certains esters de choline hydrolysés par l'estérase du muscle de sangsue, ne le sont point par l'estérase du sérum. Il ne paraît donc pas, *a priori*, impossible que, inversement, certains agents antiestérasiques actifs dans un cas, deviennent inactifs dans l'autre.

b) *Temps différent d'action efficace*. — Entre les deux séries d'expériences, l'origine de l'estérase ne représente pas la seule différence. Dans l'une (sérum) il y a destruction totale de l'acétylcholine en soixante secondes, dans l'autre (muscle de sangsue), en 15 ou 20 minutes.

Le facteur temps (dépendant peut-être lui-même de la quantité d'estérase en jeu) n'interviendrait-il donc pas, sans qu'il soit besoin même de faire appel à la différence d'origine des estérases ?

Pour trancher le problème, nous avons dilué le sérum de cheval au dixième avec le liquide de Ringer. Nous avons ainsi obtenu une solution ne détruisant la même quantité d'acétylcholine, toutes choses restant égales par ailleurs, qu'après un contact de 15 minutes, comme il en est pour l'extrait de sangsue. Or, vis-à-vis de ce sérum dilué, il faut encore 1 p. 2.000 à 1 p. 1.000 d'eucodal pour obtenir une action antiestérasique de même ordre de grandeur que celle de l'ésérine à 1 p. 20.000.

En résumé, en présence d'un extrait aqueux de sangsue (2 cm³, inactivant 1 cm³ d'une solution d'acétylcholine à 1 p. 10.000 en 15 minutes) l'action antiestérasique de l'eucodal est presque aussi marquée que celle de l'ésérine à 1 p. 20.000, c'est-à-dire qu'il y a une protection presque totale,

En présence d'un sérum de cheval pur (2 cm³ inactivant la même quantité d'acétylcholine en 60 secondes), l'action antiestérasique de l'eucodal est environ 10 à 20 fois plus faible que celle de l'ésérine.

En présence d'un sérum de cheval dilué au dixième (2 cm³, inactivant la même quantité d'acétylcholine en 15 minutes), l'action antiestérasique de l'eucodal reste 10 à 20 fois inférieure à celle de l'ésérine.

Sans vouloir tirer de ces expériences plus de conséquences qu'elles n'en comportent, il est cependant permis d'en déduire que la classification, faite par les auteurs, des diverses substances favorisantes de l'acétylcholine, d'après leur pouvoir protecteur *vis-à-vis de l'estérase du sérum de cheval*, ne saurait être appliquée, sans interprétation, au cas particulier de la sangsue.

Il semble également que l'on puisse admettre qu'une drogue ayant vis-à-vis du sérum de cheval un pouvoir antiestérasique beaucoup plus faible que celui de l'ésérine, serait encore capable de protéger de façon très suffisante l'acétylcholine contre l'estérase d'un extrait aqueux de sangsue.

A ce moment, ou bien nous admettrons avec E. KAHANE et Mlle LÉVY (1937) l'existence dans le muscle de sangsue d'une forme d'estérase non diffusible ou bien nous serons amenés à penser que le facteur antiestérasique ne joue dans la potentialisation de l'acétylcholine qu'un rôle secondaire.

* * *

Continuant à essayer de découvrir le mécanisme de l'action favorisante de l'eucodal, nous devons encore nous poser deux questions essentielles :

A. — Que devient l'action favorisante de la dihy-

drooxycodéinone sur le muscle de sangsue, vis-à-vis d'autres substances que l'acétylcholine ?

B. — Que devient l'action favorisante de la dihydrooxycodéinone, vis-à-vis de l'acétylcholine, sur d'autres réactifs que le muscle de sangsue ?

Action favorisante de la dihydrooxycodéinone sur le muscle de sangsue, vis-à-vis d'autres substances que l'acétylcholine

Le plan de nos recherches était le suivant : Etalonner le muscle de sangsue énérvé mais non ésériné à une série de substances (ammonium, baryum, potassium, nicotine, vératrine) choisies de telle manière qu'elles soient représentatives des groupes précédemment élaborés par nous (notamment élévation de tonus sans contractions rythmées et contractions rythmées sans élévation marquée du tonus) et que certaines d'entre elles aient déjà été reconnues comme sensibilisées par l'ésérine.

Chlorure de potassium. — Une solution de chlorure de potassium isotonique au Ringer employé et correspondant à une concentration de 8,2 gr. p. 1.000 était ajoutée à la dose de 2 cm³ aux 20 cm³ de Ringer du bain. Dans ces conditions, le muscle dorsal énérvé de sangsue met un certain temps à réagir, et il faut compter une dizaine de minutes pour pouvoir enregistrer une contraction appréciable. Mais le fait essentiel est que, dans la plupart des cas, malgré une série de lavages abondants, nous n'avons pas réussi à faire récupérer au muscle sa sensibilité primitive. Nous présentons une courbe typique (fig. 13) où l'on voit les réponses successives de la préparation pour une même dose de Cl K.

Les réponses vont en croissant, malgré les lavages copieux effectués à chaque intervalle. Nous avons alors essayé d'augmenter la dose (3 cm³) pour diminuer le temps de latence, mais les réponses nous ont paru encore très irrégulières et aucun essai de sensibilisation à l'eucodal n'a donc pu être tenté.

Chlorure de baryum. — Le chlorure de baryum a été employé sous forme de solution concentrée à 1 p. 100 dont on ajoutait, suivant la sensibilité de la préparation, une goutte ou 2 gouttes aux 20 cm³ de Ringer, ce qui représentait une dilution finale de 1 p. 40.000 ou 1 p. 20.000. A ces doses, après 3 ou 5 minutes, on obtient habituellement une contraction appréciable et dont la constance, sans être comparable à celle des contractures acétylcholiniques, était cependant à peu près satisfaisante. Mais alors, non seulement nous n'avons pas trouvé d'action nettement sensibilisante de l'eucodal même à 1 p. 200.000, mais nous n'en avons pas eu non plus avec l'ésérine à la même dose.

Nicotine. — A la concentration de 1 p. 1.000.000, la nicotine produit, en 2 ou 3 minutes, une contracture très appréciable, et que l'on peut répéter 3 ou 4 fois de suite, de façon sensiblement identique après lavages de la préparation. Mais là encore, ni l'eucodal à 1 p. 200.000, ni l'ésérine à la même concentration ne nous ont donné de sensibilisation marquée et constante. Or, FÜHNER signalait une action favorisante de l'ésérine vis-à-vis de la nicotine, à la concentration de 1.10^e.

Vératrine. — Le sulfate de vératrine à partir de 1 p. 2.000.000 ou même 1 p. 5.000.000 produit des contractions rythmées très particulières en ce sens que, après une contraction très accentuée et relativement très rapide, on trouve une série de petits mouvements de faible amplitude ou vice-versa. Nous ne voyons pas, pour notre

part, — étant donné ce polymorphisme des réponses — la possibilité pratique d'étalonner une préparation de sangsue à la vératrine et toute tentative de sensibilisation nous a paru d'emblée livrée à l'échec.

En résumé, cette partie de nos recherches sur laquelle nous comptions beaucoup et qui, expérimentalement, nous a arrêtés longuement, s'est montrée particulièrement décevante. En effet, nous sommes amenés à signaler des faits, — comme l'impossibilité d'étalonner une musculature de sangsue au potassium et à la vératrine — qui n'avaient nullement été mentionnés par les auteurs qui s'étaient occupés de la même question ; ou bien même des faits en contradiction avec les résultats d'expérimentateurs estimés, non sensibilisation du chlorure de baryum et de la nicotine par l'ésérine.

Ces résultats sont-ils dûs à ce que les expériences correspondantes ont été faites dans les jours chauds au moment où la sensibilité des diverses sangsues est signalée par la plupart des auteurs comme notoirement instable, ou, au contraire, faut-il leur accorder une entière valeur, c'est ce que nous pourrions peut-être dire, aujourd'hui, si les circonstances nous avaient permis de poursuivre ce travail.

Action favorisante de la dihydrooxycodéinone vis-à-vis de l'acétylcholine sur d'autres réactifs que le muscle de sangsue.

Nous avons envisagé une série de tests biologiques : muscle grand droit de grenouille, cœur isolé de *Helix pomatia*, intestin isolé de lapin, tension artérielle de lapin, pour nous rendre compte si, — comme la préparation de sangsue — une sensibilisation par l'eucodal

pouvait être mise en évidence, vis-à-vis de l'acétylcholine.

Muscle grand droit de grenouille. — Le muscle *rectus abdominalis* est isolé avec précaution, fixé à la manière de l'intestin isolé sur un myographe et plongé dans un bain de Ringer aéré, de pH 7,0. Après quelques instants de repos, le muscle est étalonné par l'acétylcholine pure à 1 p. 2.000.000 pendant 3 minutes. Après lavage, nouvel étalonnage après 6 minutes de contact avec de l'eucodal à 1 p. 40.000 ; contraction inchangée. Après un nouveau lavage et un nouvel étalonnage à l'acétylcholine qui montre que le muscle a gardé sa sensibilité primitive, une dernière contracture en présence d'ésérine à 1 p. 100.000 confirme l'effet sensibilisateur de cette dernière substance. (Fig. 14, à gauche).

Sur une autre préparation, étalonnage à l'acétylcholine (solution à 1 p. 2.000.000) pendant 2 minutes ; en présence de dilutions successives d'eucodal à 1 p. 80.000, 1 p. 40.000, 1 p. 20.000, diminution marquée de l'amplitude des réponses acétylcholiniques. Après un dernier lavage, ésérine à 1 p. 100.000 : 6 minutes, acétylcholine 1 p. 2.000.000 : réponse d'intensité presque double que la précédente (fig. 14, à droite).

Dans une troisième série d'expériences, nous avons porté la concentration en eucodal à 1 p. 10.000 et le temps de contact à 20 minutes. Nous n'avons obtenu aucune augmentation de la réponse acétylcholinique, alors que l'ésérine à dose 10 fois moindre suffisait à la faire passer du simple au double.

Donc, dans les mêmes conditions où le muscle grand droit de grenouille est sensibilisé par l'ésérine vis-à-vis de l'acétylcholine, ce test n'est pas sensibilisé par l'eucodal.

Cœur isolé de *Helix pomatia*. — La préparation de cœur de *Helix pomatia* est un test biologique maintes

fois utilisé en physiologie à la suite de BIEDERMANN, LAPICQUE et CARDOT, BINET et PERLES, MOUGEOT et AUBERTOT, DODEL et DASTUGUE (en hydrologie expérimentale), GAUTRELET, HALPERN et CORTEGGIANI. Ces derniers ont étudié l'action d'arrêt provoquée par des solutions d'acétylcholine sur cet organe isolé. HALPERN et E. CORTEGGIANI ont même fait de la plus ou moins grande précocité de la reprise des battements, en présence d'extraits d'organes après arrêt acétylcholinique, un test biologique de détermination de l'activité cholinestérasique des tissus. Cependant, le cœur isolé d'escargot par suite de sa faible sensibilité vis-à-vis de l'acétylcholine ne pouvait pas être considéré comme un bon test de détection ou de dosage jusqu'au jour, où tout récemment (1939), JULLIEN, VINCENT, VUILLET et BOUCHET montrèrent *a*) que la sensibilité de la préparation augmentait très notablement quand l'application de la drogue était faite par perfusion interne et *b*) que dans tous les cas, cette sensibilité était notablement activée en présence d'ésérine. C'est cette dernière technique que nous avons adoptée. Un ventricule isolé de cœur de *Helix pomatia* est immergé dans 20 cm³ de solution de CARDOT. La formule est la suivante :

Par litre :	Cl Na	6,5 g
	Cl K	0,64
	Cl ₂ Ca, 6H ₂ O	3,5
	Cl ₂ Mg, 6H ₂ O	8,7

On dilue aux 2/3, c'est-à-dire que l'on ajoute un volume d'eau à deux volumes de la solution précédente. La présence d'un courant d'oxygène est indispensable, non pour assurer la survie du cœur, mais pour obtenir une sensibilité suffisante.

Dans ces conditions, il est facile de confirmer les expériences des auteurs précédents et de constater par exemple que, en présence d'ésérine à 1 p. 200.000, une

concentration d'acétylcholine à 1 p. 20.000.000 qui, seule, n'a aucune action par voie externe sur le ventricule isolé devient alors nettement active (fig. 15).

Il est également aisé de reproduire le même phénomène en présence d'eucodal à 1 p. 200.000, mais si l'on effectue la contre-épreuve qui consiste à examiner l'action exercée par la dihydrooxycodéïne pure, en l'absence de tout autre agent, on s'aperçoit que l'eucodal a une action toxique prononcée sur le ventricule isolé de *Helix pomatia*. Cette action toxique est très sensible encore à 1 p. 400.000. A la concentration de 1 p. 200.000 où elle est relativement rapide (2 à 3 minutes) on constate une diminution progressive de l'amplitude des oscillations sans modifications du tonus, puis il y a abolition totale des systoles pendant une intervalle d'environ 30 secondes qui se termine par une salve de 2 ou 3 contractions analogues aux systoles normales (fig. 16).

Un second intervalle sans systole un peu plus long que le premier se produit, et ainsi de suite par une succession alternée de 2 ou 3 contractions très rapprochées; d'amplitude normale, séparées par des phases diastoliques de plus en plus prolongées. Finalement le cœur s'arrête en diastole 8 à 10 minutes après l'addition d'eucodal, et l'on voit alors le tonus s'élever. Il faudrait donc, dans une série d'expériences ultérieures, rechercher à quelle dose (certainement inférieure à 1 p. 1.000.000) l'eucodal devient dépourvu d'action toxique, vis-à-vis du cœur d'escargot, et c'est seulement ensuite que pourrait être envisagée la mise en évidence d'un pouvoir sensibilisateur.

Intestin isolé de lapin. — Les expériences ont été menées avec les précautions d'usage. Un segment d'intestin, prélevé après laparatomie médiane sur un lapin à jeun tué par saignée, est vidé doucement de son contenu et immergé immédiatement dans le liquide de Rin-

ger, maintenu à la température de 39° dans un thermostat.

Le liquide de Ringer que nous avons employé avait la composition suivante :

Chlorure de sodium	9,2 g
Chlorure de potassium	0,42
Chlorure de calcium	0,18
Glucose	1
Eau	q. s. p. 1.000 cm ³

— Par addition de bicarbonate de sodium on réalise un pH voisin de 7,7 ; un courant d'oxygène régulier assure l'aération du liquide, tandis que les mouvements pendulaires s'inscrivent sur un cylindre à vitesse lente par l'intermédiaire d'un levier amplificateur.

Nous avons cherché en premier lieu à fixer les doses auxquelles l'ésérine et l'eucodal pouvaient être considérés comme dépourvus d'action sur le tonus, l'amplitude et la fréquence des contractions et par conséquent, essayés comme sensibilisateurs.

En ce qui concerne l'ésérine, nous avons vu que cette drogue, même à la dilution de 1 p. 1.000.000 exerçait encore une action très notable, sur l'intestin, augmentation considérable du tonus, diminution d'amplitude des contractions. Il paraît donc opportun d'écarter en pratique l'ésérine de la liste des substances susceptibles d'être employées comme sensibilisatrices de l'intestin isolé vis-à-vis de l'acétylcholine.

L'eucodal, au contraire, possède une action propre infiniment moins marquée. Là encore, il y a, habituellement, élévation du tonus et surtout diminution de l'amplitude des contractions. Mais les doses nécessaires sont considérables. On peut dire qu'au-dessous de 1 p. 5.000 l'eucodal ne produit aucun effet appréciable, et qu'il faut arriver à la concentration de 1 p. 1.000 pour arrêter les contractions en hypertonie (fig. 8). Nous avons donc pu

manier très largement la dihydrooxycodéinone pour essayer son action sensibilisante. On faisait agir l'acétylcholine à 1 p. 80.000.000 ou 1 p. 40.000.000 et l'eucodal de 1 p. 500.000 à 1 p. 20.000. Mais que l'eucodal soit utilisé avant ou pendant l'action de l'acétylcholine, il nous a été impossible au cours de plusieurs expériences, de mettre en évidence un pouvoir potentialisateur bien caractérisé (fig. 17).

Tension artérielle du lapin. — Nous relevons ici le protocole de deux expériences :

A. Lapin mâle, 3,300 kg. — On injecte dans la veine marginale de l'oreille 1,5 gr. d'uréthane et après quelques minutes l'une des carotides est mise à nu. On coupe les poils de la région antérieure du cou. On coupe la peau le long de la ligne médiane, sur une longueur de 5 cm. environ. Les muscles sous-jacents sont dissociés prudemment à l'aide de la sonde cannelée et on découvre ainsi la trachée. De chaque côté roule sous le doigt le paquet vasculo-nerveux. On sent battre la carotide. On l'isole en la séparant de la gaine qui l'entoure, on lie le bout céphalique et on place une pince artérielle du côté cardiaque.

Une incision en V est pratiquée avec une paire de fins ciseaux entre la ligature et la pince et on introduit l'extrémité effilée d'une canule de JOLYET en direction centripète. On lie avec précaution. Après ablation de son mandrin la canule est mise en relation avec le manomètre à mercure (kymographe de LUDWIG) par un tube en caoutchouc rempli de liquide anticoagulant (solution saturée de sulfates de soude et de magnésie).

La pince carotidienne étant enlevée, les oscillations du manomètre s'inscrivent sur un cylindre enregistreur à marche lente (fig. 18).

10 h, 20. — Tension artérielle : 7 - 8 cm. de Hg.

10 h. 26. — Injection dans la veine marginale de $2/100^{\circ}$ de milligramme d'acétylcholine. En 20 secondes, chute de la tension à 2,5 cm.

10 h. 40. — La tension artérielle a repris sa valeur initiale. A ce moment, injection intraveineuse lente (30 secondes) de dihydrooxycodéinone (0,5 mg par kg de poids). Augmentation très nette de l'amplitude des oscillations d'ordre respiratoire et baisse lente et très légère de la tension artérielle.

10 h. 44. — Injection intraveineuse d'acétylcholine à la même dose et dans les mêmes conditions que la première fois. La chute de tension artérielle a également la même valeur et se produit de façon identique.

10 h. 50. — Coagulation sanguine. Arrêt de l'inscription et fin de l'expérience.

B. Lapin mâle, 2,900 kg - Uréthane par voie intraveineuse, 1,5 g.

10 h. 30. — Tension artérielle, 7,5 - 8,5 cm. de Hg.

10 h. 38. — Injection dans la veine marginale de l'oreille de $1/100^{\circ}$ de milligramme d'acétylcholine. La tension artérielle tombe à 3 cm en 25 secondes.

10 h. 42. — La tension artérielle a repris sa valeur initiale.

10 h. 44. — Injection intraveineuse lente d'eucodal (0,5 mg par kg). On note, à nouveau, une augmentation très nette de l'amplitude des oscillations d'origine respiratoire.

10 h. 50. — Acétylcholine dans des conditions identiques à celles de la première injection ($1/100^{\circ}$ de milligr.). Même chute de tension artérielle à 3 cm de Hg en une vingtaine de secondes. Même reprise de la valeur normale en une minute environ.

10 h. 53. — Tension artérielle 7,5 - 8,5 cm. Injection intraveineuse de 20 mg d'eucodal. En quelques secondes, arrêt des mouvements respiratoires et mort de l'animal.

Ces deux expériences tout à fait concordantes, nous permettent de conclure nettement que dans les conditions

et aux doses précitées, l'eucodal n'exerce, *in vivo*, aucune action favorisante vis-à-vis de l'acétylcholine.

Par ailleurs, c'est à dessein que nous avons anesthésié plus ou moins complètement nos animaux avec une dose faible d'uréthane.

LAUNOY et NICOLLE (1930) ont en effet montré que l'injection intraveineuse de morphine (0,01 à 0,005 gr. par kg.) à des lapins anesthésiés par le chloralosane, le gardénal, l'uréthane ou le chloral, déterminait des phénomènes apneïques graves, toujours mortels pour les lapins chloralosanés. De même, MALONEY et TALUM (1930) ont vu que, après anesthésie par quelques barbituriques: néonal, phénobarbital, la morphine peut produire de l'embaras respiratoire et même la mort.

De fait, nous avons pu constater avec l'eucodal à la dose de 0,5 mg. par kg. une augmentation considérable de l'amplitude des mouvements respiratoires accompagnée d'une diminution de fréquence (20 à la minute), et à une plus forte dose (7 mg. par kg. de poids) mort très rapide dans laquelle l'arrêt de la respiration *précède* l'arrêt des pulsations cardiaques.

D'ailleurs, nous pensons qu'à égalité de pouvoir potentialisateur, comparativement avec l'ésérine, cette dose de 0,5 mg aurait dû être suffisante pour manifester une action sensibilisatrice possible de la part de l'eucodal (1).

(1) Jeanne LÉVY et Laïa OLSZYCKA (1937) se sont assurées que chez le chien l'administration d'ésérine à la dose de 0,2 mg. par kg. entraînait une inhibition de l'estérase du sérum d'environ 30 à 50 p. 100 et que l'injection de plus fortes doses d'ésérine n'augmentait plus l'inhibition des estérases.

Conclusions

Le mécanisme précis de l'action potentialisatrice de l'ésérine restant encore à établir après bien des années de recherches, on ne s'étonnera peut-être pas que celui de l'eucodal soit encore bien obscur et il faut avouer que les faits que nous apportons sont surtout d'ordre négatif.

La dihydrooxycodéinone a un pouvoir antiestérase que faible ou tout au moins très inférieur à celui de l'ésérine.

Son action sensibilisante sur le muscle de sangsue vis-à-vis d'autres substances, admises par les auteurs comme étant sensibilisées par l'ésérine, reste très douteuse.

Son action sensibilisante vis-à-vis de l'acétylcholine sur d'autres réactifs biologiques que le muscle de sangsue (muscle grand droit de grenouille, cœur isolé de *Helix pomatia*, intestin isolé de lapin, tension artérielle) s'avère négative.

En résumé, le seul point commun entre l'eucodal et l'ésérine nous paraît résider jusqu'ici dans leur pouvoir potentialisateur très intense sur la préparation de sangsue vis-à-vis de l'acétylcholine.

Les différences nombreuses et notables, que nous venons de signaler, font évidemment présager un mécanisme d'action assez différent. Aucune conclusion plus poussée ne saurait être tirée sérieusement de nos recherches. Mais, nous sommes persuadés que leur poursuite, — que nous comptons bien reprendre quand les circonstances le permettront, — sera fructueuse.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Après avoir rappelé l'importance du rôle physiologique joué par l'acétylcholine, nous avons souligné le fait que les travaux de LÆWI et de DALE, qui ont établi sa fonction d'intermédiaire chimique, avaient été conditionnés, — de même d'ailleurs que les découvertes à venir — par la question du dosage biologique de l'acétylcholine.

Ayant rapidement énuméré les principaux tests susceptibles d'être retenus pour servir à ce dosage, nous nous sommes appliqués à l'étude minutieuse d'un des plus fidèles : le muscle dorsal énnervé de la sangsue.

Cette préparation est relativement peu sensible aux variations des principaux facteurs physiques (température, pression osmotique, acidité ionique). Les principales substances chimiques peuvent être classées suivant leur activité en cinq groupes : celles qui n'ont pas d'action

sur le tonus du muscle ; celles qui abaissent ce tonus ; celles qui donnent des contractions rythmées sans élévation marquée du tonus ; celles qui donnent des contractions rythmées avec élévation marquée du tonus et celles qui produisent une élévation forte et rapide du tonus avec peu ou pas de contractions rythmées.

Mais à côté de la sensibilité de la préparation de sangsue à d'autres substances que l'acétylcholine, il est plus intéressant encore de considérer sa sensibilisation par d'autres substances que l'ésérine. En particulier, nous avons établi de ce point de vue, l'étude des alcaloïdes dérivés de la morphine qui présentent la particularité d'être inhibiteurs ou favorisants suivant qu'on les fait agir sur une préparation ésérinée ou non. Toutefois, les substances favorisantes jusqu'ici signalées par les auteurs n'avaient toujours qu'un pouvoir potentialisateur très inférieur à celui de l'ésérine (cent fois inférieur pour la morphine par exemple). Au contraire, il nous a été donné de découvrir dans la dihydrooxycodéinone un sensibilisateur aussi puissant que l'ésérine. Le mode d'action de ce sensibilisateur paraît différent de celui de l'ésérine, car son pouvoir antiestérasique est faible et certains tests biologiques qui sont influencés par l'ésérine ne le sont pas par lui.

Il ne nous paraît guère possible de reprendre ici en quelques mots, les conclusions énoncées à la fin de chaque chapitre, et auxquelles, pour plus de détails, nous nous permettons de renvoyer le lecteur.

Mais si, de tous les faits, plus ou moins importants, que nous avons apportés en contribution à l'étude du dosage biologique de l'acétylcholine, un seul était jugé digne d'être retenu, nous voudrions que ce fût la sensibilisation de l'acétylcholine par la dihydrooxycodéinone.

Nous croyons, en effet, que l'étude approfondie de

ce phénomène serait capable, non seulement de faciliter le dosage de l'acétylcholine en plaçant à côté du seul sensibilisateur jusqu'ici susceptible d'être pratiquement utilisé, — l'ésérine — une autre substance potentialisatrice d'activité aussi intense, la dihydrooxycodéinone, mais qu'il y aurait peut-être encore là un moyen efficace de pénétrer plus avant dans le mécanisme d'action de l'acétylcholine elle-même.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Les constituants lipido-protéïques.

Les hormones de croissance chez les végétaux.

VU ET APPROUVÉ :

*Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Lyon.*

Pour le Doyen, l'Assesseur :

H. CARDOT.

LU ET ACCEPTÉ :

Les Membres du Jury :

H. CARDOT,

Cl. FROMAGEOT,

R. KUHNER.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Lyon, le 23 Janvier 1940.

Le Recteur,

Président du Conseil de l'Université :

A. LIRONDELLE.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE PERSONNELLE

1. Action de quelques anesthésiques sur le tonus du muscle dorsal antérieur de sangsue et sa sensibilité à l'acétylcholine. — *C. R., Soc. Biol.* 1936, 131, p. 220.
2. Contribution expérimentale à l'étude du muscle dorsal antérieur de sangsue, réactif biologique de l'acétylcholine. — *Clermont-Médical* 1936, 29, p. 15.
3. Etude pharmacodynamique du muscle dorsal antérieur de sangsue, réactif biologique de l'acétylcholine (avec P. DODEL). — *Bull. Sc. Pharm.* 1937, 44, p. 145.
4. Action de certains ions et de certaines eaux minérales sur le comportement du muscle de sangsue (avec P. DODEL). — *Ann. Soc. Hydr. Paris* 1937, 79, p. 169.
5. Antagonisme de quelques ions et de quelques eaux minérales vis-à-vis de l'acétylcholine (avec P. DODEL). — *Ann. Soc. Hydr. Paris* 1937, 79, p. 175.
6. Sur quelques actions physiologiques de l'eau minérale de Châtel-Guyon (avec Marg. BALME). — *Ann. Soc. Hydr. Paris* 1938, 79, p. 234.
7. A propos du dosage biologique de l'acétylcholine dans le sang. *Bull. Drs en Phcic* 1938, 4, p. 97.
8. Action de la morphine, de ses dérivés et, plus particulièrement, de la dihydrooxycodéinone sur la sensibilité du muscle de sangsue (ésériné ou non ésériné) à l'acétylcholine (avec P. DODEL et A. BRESSON). — *C. R. Soc. Biologie* 1939, 132, p. 267.
9. Essai d'analyse de l'action favorisante de la dihydrooxycodéinone (eucodal) vis-à-vis de l'acétylcholine sur le muscle de sangsue (avec P. DODEL et A. BRESSON). — *Clermont-Médical* 1939, 63, p. 3.

10. Influence de la morphine et de ses dérivés, notamment la dihydrooxycodéinone sur l'activité de l'acétylcholine (avec A. BRESSON). — *Bull. Sc. Pharm.* 1940, (sous presse).
11. Action comparée de la dihydrooxycodéinone et de l'ésérine sur la sensibilité du muscle de sangsue à l'acétylcholine (avec M. GANDOUR). — *Bull. Sc. Pharm.* 1940, (sous presse).
12. Recherches sur le mécanisme de l'action sensibilisante de la dihydrooxycodéinone vis-à-vis de l'acétylcholine (avec A. BRESSON et M. GANDOUR). — *Bull. Sc. Pharm.* 1940, (sous presse).

BIBLIOGRAPHIE GÉNÉRALE

1. AEDERHALDEN (E.), PAFFRATH (H.). — Beitrag zur Frage der Inkret Hormon Wirkung des Cholins auf motorischen Funktionen des Verdauungskanales. — *Arch. f. Physiol.* 1925, 207, p. 241.
2. AEDERHALDEN (E.), und PAFFRATH (H.). — Beitrag zur Frage der Inkret Hormon Wirkung des Cholins auf die motorischen Funktionen des Verdauungskanales. V. Ueber die Synthese von Cholinestern aus Cholin und Fettsäuren mittels des Dünndarmes. — *Erg. Fermentforschung* 1925, 8, p. 229.
3. AGID (H.) et BALKANYI (J.). — Action du liquide d'excitation vagale du cœur de grenouille sur le muscle de sangsue ésériné. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 683.
4. AGID (R.), BONVALLET (M.) et MINZ (B.). — Sensibilisation par la vitamine B₁ de l'intestin isolé du rat et de l'appareil circulatoire du chat à l'action de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 982.
5. AGREL (M.). — Etude expérimentale des effets de l'acétylcholine sur l'appareil cardio-vasculaire et l'équilibre glycémiqne. — *Thèse Doct. Pharmacie*, Lyon, 1938.
6. ALIÉRI (V.) et LITTARI (A.). — Action de l'acétylcholine sur les échanges gazeux des rats ésérinés. — *Arch. Int. Pharm. et Therm.* 1937, 56, p. 238.
7. AMMON (R.). — Die Fermentative Spaltung des Acétylcholins. *Arch. f. Physiol.* 1933, 233, p. 486.
8. AMMON (R.) und KWIATKOWSKI (H.). — Die Bildung von Acétylcholin in Serum und Embryonalextrakt. — *Arch. f. Physiol.* 1934, 234, p. 269.

9. AMMON (R.). — Zur Frage des Vorkommens von Acetylcholin im Blute. — *Klin. Wschr.* 1934, 2, p. 1472.
10. AMMON (R.). — Die Cholinestérase. — *Erg. Enzymforsch* 1935, 4, p. 102.
11. AMMON (R.) und Voss (G.). — Die acetylcholinzerstörende Wirkung des Blutes. — *Pfluger's Arch. f. Phys.* 1935, 235, p. 393.
12. BACQ (Z.-M.). — Action des ions K et Ca, de l'adrénaline et de l'acetylcholine sur la musculature lisse du tractus génital du cobaye mâle. — *C. R. Soc. Biol.* 1932, 111, p. 644.
13. BACQ (Z.-M.). — Recherches sur la physiologie du système nerveux autonome. Réactions du ventricule médian, des chromatophores et de divers organes isolés d'un mollusque céphalopode (*Loligo pealii*) à l'adrénaline, l'acetylcholine, l'ergotamine, l'atropine et aux ions K, Ca et Mg. — *Arch. Int. Physiol.* 1934, 38, p. 138.
14. BACQ (Z.-M.) et FRÉDÉRICQ (H.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Essai d'identification du médiateur chimique libéré dans la membrane nictitante du chat par l'excitation sympathique. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 40, p. 297.
15. BACQ (Z.-M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Nature cholinergique et adrénergique des diverses innervations vasomotrices du pénis chez le chien. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 40, p. 311.
16. BACQ (Z.-M.) et FRÉDÉRICQ (H.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Modifications apportées par deux dérivés de l'aminométhylbenzodioxane (883 F et 933 F) aux effets de l'adrénaline et de l'excitation sympathique sur la membrane nictitante du chat. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 40, p. 454.
17. BACQ (Z.-M.) et MONNIER (A.-M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Variations de la polarisation des muscles lisses sous l'influence du système nerveux autonome et de ses mimétiques. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 40, p. 467.
18. BACQ (Z.-M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Les esters de la choline dans les extraits de tissus des Invertébrés. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 42, p. 24.
19. BACQ (Z.-M.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Libération de sympathine par excitation chimique des ganglions sympathiques. — *Arch. Int. Physiol.* 1936, 44, p. 112.
20. BACQ (Z.-M.). — Nouvelles observations sur l'acetylcholine et la choline estérase chez les Invertébrés. — *Arch. Int. Physiol.* 1937, 44, p. 174.

21. BACQ (Z.-M.) et COPPÉE (G.). — Réactions des vers et des mollusques à l'ésérine. Existence de nerfs cholinergiques chez les vers. — *Arch. Int. Physiol.* 1937, 45, p. 310.
22. BACQ (Z.-M.) et COPPÉE (G.). — Action de l'ésérine sur la préparation neuromusculaire du siponcle et de la sangsue. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1.244.
23. BACQ (Z.-M.) et COPPÉE (G.). — Contraste entre les Vers et les Mollusques en ce qui concerne leur réaction à l'ésérine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 1.059.
24. BACQ (Z.-M.) et NACHMANSOHN (D.). — La cholinestérase dans les muscles des Invertébrés. — *J. Physiol.* 1937, 89, p. 369.
25. BARLOW (O.-W.). — Influence de l'atropine et de l'adrénaline sur la réaction du cœur de grenouille perfusé à l'acétylcholine. — *S. Pharm. exp. Ther.* 1928, 23, p. 93.
26. BARRY (D.-I.). — Les effets de l'acétylcholine chez le chien décapsulé et atropiné. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1.208.
27. BARSOUM (G.-S.) et GADDUM (J.-H.). — The pharmacological estimation of adenosine and histamine in blood. — *J. Physiol.* 1935, 42, p. 24.
28. BARTSCHI (W.). — La réaction de l'artère coronaire à l'acétylcholine. — *Arch. ges. Physiol.* 1936, 238, p. 296.
29. BARTSCHI (W.). — La réaction de l'artère coronaire à l'histamine. — *Arch. ges. Physiol.* 1937, 238, p. 606.
30. BAYER (G.) et WENSE (Th.). — Influence de l'histamine sur l'action de l'acétylcholine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1936, 182, p. 533.
31. BAYLESSE (F.) et HANDOVSKY (H.). — L'antagonisme entre l'atropine, l'acétylcholine et la B-méthylacétylcholine sur le cœur *in situ* du chien et du chat. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 988.
32. BEAUVALLET (M.). — L'automatisme de l'intestin d'escargot. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 959.
33. BEAUVALLET (M.). — Modifications du tonus de l'intestin grêle du pigeon sous l'influence de l'acétylcholine et de l'ésérine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 1.128.
34. BENOIT (P.-H.) et BEAUVALLET (M.). — Effets comparés de l'acétylcholine et du courant constant sur le muscle strié. Action du froid et de l'ion calcium. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 1.247.
35. BERNHEIM (F. et M.). — Oxydation of Acetylcholine by tissues. — *Amér. Journ. of Physiol.* 1933, 104, p. 438.
36. BERNHEIM (F.). — Action des diogues sur l'intestin isolé de certains poissons téléostéens. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1934, 50, p. 216.
37. BERNHEIM (F.). — Interaction de l'acétylcholine et de l'adré-

- naline sur l'intestin grêle isolé de divers animaux. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1934, 51, p. 59.
38. BERNHEIM (F.). — Action de l'acétylcholine, adrénaline et certaines autres drogues sur l'intestin grêle isolé du rat. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1934, 51, p. 68.
39. BERNHEIM (F.). et GORFAIN (A.). — The effect of different concentrations of acetylcholine and histamine on the rate of contraction of the longitudinal muscles of the guinea pig ileum. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1934, 52, p. 338.
40. BERNHEIM (F.) et BERNHEIM (M.). — Action des drogues sur la cholinestérase du cerveau. — *Journ. of. Pharm.* 1936, 57, p. 427.
41. BESANCON (J.-L.). — Recherches physiologiques sur l'acétylcholine. — *Thèse doct. ès Sciences, Paris, Masson, 1929.*
42. BEZNACH (A.). — Untersuchungen über das Freiwerden von Acetylcholin. — *Ber ges. Physiol.* 1934, 81, p. 570.
43. BINET (L.) et PERLES. — Etude du cœur de l'escargot isolé de l'organisme. — *Presse Médicale* 1929, p. 1.141.
44. BINET (L.) et MINZ (B.). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine formée par le tronc du nerf vague isolé, soumis à l'action du courant électrique. — *Rev. Soc. arg. Biol.* 1934, 10, p. 265.
45. BINET (L.) et MINZ (B.). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée dans le tronc du nerf vague au cours de l'excitation électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 116, p. 107.
46. BINET (L.) et MINZ (B.). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée par le tronc du nerf vague isolé, soumis à l'action du courant électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 117, p. 1.029.
47. BINET (L.) et MINZ (B.). — Sur une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée dans le tronc du nerf pneumogastrique au cours d'une excitation indirecte. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 1.130.
48. BINET (L.) et MINZ (B.). — Sur les réactions biochimiques du nerf au repos et au cours d'une excitation électrique. — *Arch. Int. Physiol.* 1936, 42, p. 286.
49. BLOCH (E.) et NECHELES (H.). — L'apparition d'acétylcholine dans le suc gastrique. — *Amer. J. Physiol.* 1938, 122, p. 631.
50. BLUM (J.-D.). — Contribution à l'étude de l'acétylcholine dans le sang. — *Arch. Int. Physiol.* 1938, 46, p. 86.
51. BOGDANOVITCH (S.-B.) et BARBOUR (H.-G.). — Action pharmacologique de l'oxyde de deutérium. Son effet protecteur sur l'acétylcholine et l'adrénaline. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1938, 62, p. 149.

52. BONNET (V.). — Antagonisme acétylcholine strychnine chez l'écrevisse. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 996.
53. BONSIGNORE (A.) et LOMBROSO (C.). — Sensibilisation à l'action de l'adrénaline des animaux exposés au froid. — *Bioch. Ter. Sper.* 1938, 25, p. 101.
54. BONVALLET (M.) et MINZ (B.). — Inversion par l'ergotamine de l'action de l'adrénaline et de l'acétylcholine sur le réflexe spinal. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1.179.
55. BONVALLET (M.) et MINZ (B.). — Dissociation par l'ergotamine et l'atropine des effets de l'acétylcholine et de l'adrénaline sur l'excitabilité médullaire de l'animal mésencéphalique. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 1.109.
56. BONVALLET (M.) et MINZ (B.). — Actions de l'acétylcholine et de l'adrénaline sur l'excitabilité médullaire réflexe. — *Arch. Int. Physiol.* 1938, 47, p. 181.
57. BOUCHET (M.). — L'acétylcholine dans quelques organes humains pathologiques. Tumeurs cérébrales et néoplasmes malins. — *Thèse Doct. Méd. Lyon*, 1939.
58. BRISCOE (Grace). — Antagonisme entre curarine et acétylcholine. — *J. Physiol.* 1936, 87, p. 425.
59. BROWN (D.) et BEAUNE (A.). — Modifications apportées par l'insuline à l'action cardiovasculaire de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 120, p. 1.205.
60. BROWN (D.) et BEAUNE (A.). — Sur l'action nicotinique de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 1.589.
61. BROWN (G.-L.), DALE (H.-H.) et FELDBERG (W.). — Réactions du muscle normal de mammifère à l'acétylcholine et à l'ésérine. — *J. Physiol.* 1936, 87, p. 394.
62. BRUCKE (F.-Th.). — Réponse d'un ganglion énérvé à l'acétylcholine. — *J. Physiol.* 1938, 91, p. 375.
63. BRUEGGER (I.). — Contribution expérimentale au mode d'action des drogues végétatives. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1938, 59, p. 43.
64. BUELBRING (Edith) et BURN (J.-H.). — Le phénomène de Sherrington. — *J. Physiol.* 1936, 85, p. 61.
65. BURSTEIN (M.). — Recherches sur les circulations sanguine et aérienne dans les poumons du cobaye. — *Journ. Physiol. et Pathol. Génér.* 1938, 36, p. 62.
66. BUSQUET (H.). — L'automatisme rythmique du muscle de sangsue par le phénylbarbiturate de quinine. — La résistance à Cl K. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 618.
67. BUSQUET (H.). — Action de la digitale sur le muscle de sangsue mis artificiellement en automatisme rythmique. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 839.

68. CANNON (W.-B.) et ROSENBLUETH (A.). — Transmission des impulsions à travers un ganglion sympathique. — *Amer. J. Physiol.* 1937, 119, p. 221.
69. CARMICHAEL (E.-A.) et FRASER (F.-R.). — *Heart*, 1933, 16, p. 263.
70. CHANG (H.-C.). — Studies on tissue acetylcholine. The acetylcholin content of collips estrogenic placental extract. — *Chin. J. Physiol.* 1933, 7, p. 171.
71. CHANG (H.-C.) and GADDUM (J.-H.). — Choline esters in Tissue extracts. — *Journ. of. Physiol.* 1933, 79, p. 255.
72. CHIRAY (M.), JUSTIN-BESANCON (L.), DEBRAY (C.) et LACOUR (M.). — Action des eaux de Vichy prélevées au griffon, sur le muscle de sangsue. — *Ann. Inst. Hydr. Paris* 1938, 12, p. 122.
73. CLARK (A.-J.). — The action of lipoids upon the frog's heart. — *Jour. of. Physiol.* 1913, 47, p. 66.
74. CLARK (A.-J.). — L'antagonisme de l'acétylcholine par l'atropine. — *J. Physiol.* 1926, 61, p. 547-556.
75. CLARK (A.-J.). — La réaction entre l'acétylcholine et les cellules musculaires. — *Journ. of. Physiol.* 1927, 64, p. 123.
76. COMBS (H.-C.) et O. M. C. peo. — Arrêt par l'acétylcholine des convulsions provoquées par le monobromure de camphre chez le chat. — *Proc. Soc. expér. Biol.* 1936, 34, p. 483.
77. COOK (R.-P.). — Antagonisme de l'acétylcholine et du bleu de méthylène. — *J. of. Physiol.* 1926, 62, p. 160.
78. CORTEGGIANI (E.), GAUTRELET (J.), HALPERN (N.) et SERFATY (A.). — Action inhibitrice de l'aldéhyde formique sur l'activité de la cholinestérase du sang. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 316.
79. CORTEGGIANI (E.). — Influence de l'ésérine sur la stabilité du complexe libérant l'acétylcholine par chauffage. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 944.
80. CORTEGGIANI (E.). — Contribution à l'étude de l'acétylcholine libre et dissimulée sous forme de complexe dans le cerveau. — *Thèse Doct. Sciences, Paris*, 1938.
81. CORTEGGIANI (E.), CARAYON-GENTIL, GAUTRELET (J.) et KASWIN (A.). — Un complexe précurseur d'acétylcholine. — *Journ de Physiol. et de Path. gén.* 1939, 37, p. 5.
82. CORTEGGIANI (E.) et SERFATY (A.). — Acétylcholine et cholinestérase chez les insectes et les arachnides. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 1.124.
83. COURLAND (M.) et KAHANE (E.). — Action de l'acétylcholine sur l'œil du lapin. — *C. R. Soc. Biol.* 1928, 99, p. 1 136.
84. CREA (F.-D. Mc) et (D.-F.) MARION. — Effet inhibiteur de certaines substances parasymphico-mimétiques sur la motricité intestinale. — *Proc. Soc. expér. Biol.* 1935, 32, p. 876.

85. DALE (H.-H.). — L'action de certains esters et éthers de la choline et leur relation avec la muscarine. — *Journ. of Pharm.* 1914, 6, p. 147.
86. DALE (H.) et EWINS (J.-S.). — Choline-esters and muscarinae. — *Journ. Physiol.* 1914, 48, p. 24.
87. DALE (H.) and GASSER (H.-S.). — The Pharmacology of denervated mammalian muscle. The nature of the substances producing contracture. — *Journ. of Pharm.* 1926, 29, p. 53.
88. DASTUGUE (G.). — Action de quelques anesthésiques sur le tonus du muscle dorsal de sangsue et sur sa sensibilité à l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 220.
89. DASTUGUE (G.). — Contribution expérimentale à l'étude du muscle dorsal antérieur de sangsue, réactif biologique de l'acétylcholine. — *Clermont-Médical*, 1936, 29, p. 15.
90. DASTUGUE (G.). — A propos du dosage biologique de l'acétylcholine dans le sang. — *Bull. des Drs en Pharmacie* 1938, 4, p. 97.
91. DAVIS (E.). — Relations entre les actions de l'adrénaline, de l'acétylcholine et des ions sur le cœur perfusé. — *J. of Physiol.* 1938, 71, p. 431-441.
92. DEMOOR (J.). — Le mécanisme humoral du travail automatique de l'intestin. — *Arch. Intern. Physiol.* 1938, 42, p. 425.
93. DEUTSCH (W.) et RAPER (H.-S.). — La respiration et le métabolisme du tissu de la glande sous-maxillaire du chat. — *J. Physiol.* 1938, 92, p. 439.
94. DIRNER (Z.). Synergisme des substances bronchodilatatrices. — *Arch. f. Path. u. Pharm.* 1930, 157, p. 154-164.
95. DOBEL (P.) et DASTUGUE (G.). — Etude pharmacodynamique du muscle dorsal antérieur de sangsue, réactif biologique de l'acétylcholine. — *Bull. Sc. Pharm.* 1937, 44, p. 145.
96. DOBEL (P.) et DASTUGUE (G.). — Action de certains ions et de certaines eaux minérales sur le comportement du muscle de sangsue. — *Ann. Soc. Hydr. Paris* 1937, 79, p. 169.
97. DOBEL (P.) et DASTUGUE (G.). — Antagonisme de quelques ions et de quelques eaux minérales vis-à-vis de l'acétylcholine. — *Ann. Soc. Hydr. Paris* 1937, 79, p. 175.
98. EASSON (L.-H.) et STEDMAN (E.). — La spécificité de la choline-estérase. — *Biochem. J.* 1938, 31, p. 1723.
99. EGGLETON (P.). — The action of pure phosphatides on the perfused heart of the frog. — *Biochem. Journ.* 1926, 26, p. 395.
100. EKERFORS (H.). — Action de l'aconitine sur le cœur. — *C. R. Soc. Biol.* 1928, 98, p. 795.
101. EMMELIN (N.) und KAHN (G.). — Über Beziehungen zwischen Kontraktionsgrösse von Kreatinin und Acetylcholine. — *Skand. Arch. f. Physiol.* 1937, 77, p. 297.

102. ENGELHARDT (E.) und LÆWI (O.). — Fermentative Azetylcholin spaltung im Blut, und ihre Hemmung durch Physostigmin. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1930, 150, p. 1.
103. ETTINGER (G.-H.) et HALL (G.-E.). — Synergie de l'adrénaline et de l'acétylcholine sur les vaisseaux sanguins pulmonaires du lapin. — *Quart. J. exp. Physiol.* 1935, 25, p. 259.
104. EULER (U.-S.) und GADDUM (J.-H.). — An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. — *Journ. of. Physiol.* 1931, 72, p. 74.
105. EULER (U.-S.-V.). — Une action vaso-constrictrice de l'acétylcholine sur la circulation pulmonaire du lapin. — *J. of. Physiol.* 1932, 74, p. 271.
106. EULER (U.-S.-V.). — Action de l'adrénaline, de l'acétylcholine et d'autres substances sur les vaisseaux non innervés (placenta humain). — *J. Physiol.* 1938, 93, p. 129.
107. FARBER (Sidney). — Action de l'acétylcholine sur le volume de la rate du chien. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1936, 53, p. 367.
108. FARBER (Sidney). — Action de l'acétylcholine, de la carbaminoyl- β -méthylcholine et de l'atropine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 122, p. 119.
109. FELDBERG (W.). — Action de l'atropine sur les effets de l'histamine et de l'acétylcholine sur la pression sanguine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1931, 159, p. 724.
110. FELDBERG (W.) et MINZ (B.). — Action de l'acétylcholine sur les surrénales. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1931, 163, p. 66.
111. FELDBERG (W.). — Die Wirkung von Histamin und Acetylcholin auf die glatte Muskulatur und ihre Beeinflussung durch Atropin. — *Revue de Pharmacologie* 1933, 2, p. 311.
112. FELDBERG (W.). — Der Nachweiseines aceticholinähnlichen Stoffes im Zungenveneublut des Hundes bei Reizung des Nervus lingualis. — *Pflüg. Arch.* 1933, 232, p. 88.
113. FERNANDEZ (J. de Dios). — Dosage pharmacologique des solutions d'atropine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1928, 127, p. 197.
114. FICHTENBERG (D.-G.) et LÉVY (J.). — Sur le dosage biologique de faibles quantités de morphine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 312.
115. FICHTENBERG (D.-G.). — Analyse des tissus contenant de la morphine et de l'oxydimorphine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 316.
116. FLEISCH (W.). — Die Wirkung von Histamin acetylcholin und adrenalin auf die Venen. — *Pflüger's Archiv.* 1931, 228, p. 351.

117. FLEISCH (A.) et CALVIN-FRANEL (L.). — Une substance intermédiaire de la vasodilatation. — *Arch. Intern. Physiol.* 1936, 42, p. 516.
118. FLEISCH (A.), SIBUL (I.) et KÄELIN (M.). — De l'apparition de l'acétylcholine dans le sang. — *Arch. Intern. Physiol.* 1936, 44, p. 24.
119. FLETCHER (J.-P.), BEST (Ch.) et SOLANDT (O.). — The distribution of choline. — *Biochem. J.* 1935, 29, p. 2278.
120. FONTAINE (Th.). — Action sur le muscle de sangsue de divers poisons musculaires et de différentes substances biologiques. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 119, p. 1045.
121. FRANCK (E.). — Die parasymphatische Innervation der quergestreiften Muskulatur und ihre klinische Bedeutung. — *Klin. Woch.* 1920, 31, p. 725.
122. FRANCK (E.), NOTHMANN (N.) und HIRSCH-KAUFFMANN (H.). — Ueber die « tonische » Kontraktion des quergestreiften Säugetier-muskels nach Ausschaltung der motorischen Nerven Untersuchungen an der Muskulatur der Extremitäten. — *Arch. f. Physiol.* 1923, 198, p. 391.
123. FRANEL (L.). — L'acétylcholine dans le sang chez l'animal à l'état de repos et de travail musculaire. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 41, p. 256.
124. FRÉDÉRICQ (H.). — La nature parasymphatique probable de l'innervation motrice de la rate du chien. — *C. R. Soc. Biol.* 1929, 101, p. 1164.
125. FRÉDÉRICQ (H.) et BACQ (Z.-M.). — Dissociation par l'atropine des actions inotrope et chronotrope de l'acétylcholine sur l'oreillette droite de la tortue. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 116, p. 647.
126. FRÉDÉRICQ (H.). — Absence d'antagonisme entre l'action cardiaque de l'acétylcholine et du nitrite d'amyle. — *Arch. Int. Physiol.* 1935, 41, p. 569.
127. FRÉDÉRICQ (H.). — Action des substances autono-mimétiques sur les cœurs lymphatiques de la grenouille. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 160.
128. FRÉDÉRICQ (H.). — Altérations de l'action du pneumogastrique cardiaque de la tortue, produites par des modifications du pH du cœur. — *Arch. Int. Physiol.* 1936, 42, p. 323.
129. FRÉDÉRICQ (H.). — La nature cholinergique des fibres postganglionnaires du pneumogastrique cardiaque de la tortue. — *Arch. Int. Physiol.* 1936, 43, p. 212.
130. FRÉDÉRICQ (H.) et BACQ (Z.-M.). — Action de la caféine et de la morphine sur le pneumogastrique cardiaque de la tortue. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1256.
131. FRÉDÉRICQ (H.). — Sur le mécanisme de l'apparition de la « période réfractaire secondaire » du nerf pneumogastri-

- que cardiaque de la tortue : action de la cholinestérase et de la choline. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 1.234.
132. FREUD (J.) et UYLDERT (I.-E.). — Synergisme de l'ésérine et de l'acétylcholine. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1936, 52, p. 238.
133. FUHNER (H.). — Die quantitative Bestimmung des Cholins auf biologischen Wege. — *Bioch. Ztsch.* 1916, 77, p. 408.
134. FUHNER (H.). — Untersuchungen über den Synergismus von Griffen. Die chemische erregbarkeiteigerung glatter Muskulatur. — *Arch. f. exp. Path.* 1918, 82, p. 51.
135. FUHNER (H.). — Ein Vorlesungsversuch zur Demonstration der erregbarkeitsteigern den Wirkung des Physostigmins. — *Arch. f. exp. Path.* 1918, 82, p. 81.
136. FUHNER (H.). — Der toxikologische Nachweis des Physostigmins. — *Biochem. Ztschr.* 1918, 92, p. 347.
137. GADDUM (J.-H.) et SCHILD (H.). — Depressor substances in extracts of intestine. — *J. Physiol.* 1935, 83, p. 1.
138. GAUTRELET (J.). — La choline, son rôle hypotenseur dans l'organisme. Contribution à l'étude des coordinations fonctionnelles. — *C. R. Acad. Sc.* 1909, 1, p. 995 et *Journ. Physiol. et Path. gén.* 1909, p. 227.
139. GAUTRELET (J.). — Contribution à l'étude de la choline dans la série animale. — *Congrès Int. de Physiol. Vienne*, 1910.
140. GAUTRELET (J.), HALPERN (N.) et CORTEGGIANI (E.). — Le sort de l'adrénaline et de l'acétylcholine dans l'organisme. — *La Médecine* 1935, 15, p. 726.
141. GAUTRELET (J.). — La choline et l'adrénaline dans l'organisme. Leur rôle dans la transmission humorale de l'excitation nerveuse limitée aux vertébrés. — *Bull. Acad. Méd.* 1935, 113, p. 238.
142. GAUTRELET (J.) et HALPERN (N.). — Antagonisme du curare, du cyanure d'éthyle et de l'hémolymphe vis-à-vis de l'action inhibitrice de l'acétylcholine sur le cœur. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 412.
143. GAUTRELET (J.), CORTEGGIANI (E.), KASWIN (A.) et SERFATY (A.). — Du mécanisme de la sensibilisation du muscle de sangsue par l'ésérine, vis-à-vis de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 122, p. 377.
144. GAUTRELET (J.) et SCHEINER (H.). — Détermination du pouvoir anticholinestérasique de différentes substances par la méthode de la décontraction du muscle droit de l'abdomen de la grenouille contracté par l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 738.
145. GEIGER (E.) et LÖEWI (O.). — Über Änderung des Cholingehaltes der Frosch muskulatur durch elektrische Reizung. — *Biochem. Ztschr.* 1922, 127, p. 174.

146. GLICK (D.). — Propriétés de la choline-estérase du sérum humain. — *Biochem. Journ.* 1937, 31, p. 521.
147. GOLLWITZER-MEIER (Kl.) et OTTE (M.-L.). — Ueber den Nachweis einer acetylcholinartigen Substanz bei der reflektorischen Gefässerweiterung. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1933, 171, p. 1.
148. GOLLWITZER-MEIER (Kl.). — Blutegebreaktionem auf Acetylcholin und Kalium. — *Klin. Wochens* 1934, 42, p. 1511.
149. GOLLWITZER-MEIER (Kl.). — Zur Frage des Acetylcholin im Rinderblut. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1934, 174, p. 456.
150. GOLLWITZER-MEIER (Kl.) und KRUEGER. — Acetylcholin in Frischmilz und Frischblut. — *Arch. exp. Path.* 1934, 176, p. 642.
151. GORDONOFF (T.) et SCHEINFINKEL (N.). — *Klin Wochsft.* 1937, 16, 5, p. 167.
152. GRANBERG (K.). — Action de l'ésérine sur le système nerveux autonome et particulièrement sur l'innervation sympathique. — *Arch. Int. Pharm. et Ther.* 1936, 36, p. 400.
153. GUGGENHEIM (M.) und LÖFFLER (W.). — Biologischer Nachweis proteinogener Amine in organeextracten und Körperflüssigkeiten. — *Biochem. Ztschr.* 1916, 72, p. 303.
154. GUGGENHEIM (M.) und LÖFFLER (W.). — Ueber das Vorkommen und Schicksal des Cholins un Tierkörper. — *Bioch. Ztschr.* 1916, 74, p. 209.
155. GUILLLOT (M.) et ONG-SIAN-GWAN. — Action inhibitrice des alcools sur l'intestin isolé de cobaye vis-à-vis de l'acétylcholine et de l'histamine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 33.
156. GUILLLOT (M.) et ONG-SIAN-GWAN. — Action inhibitrice de diverses substances capillaroactives sur l'intestin isolé de cobaye vis-à-vis de l'acétylcholine et de l'histamine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 318.
157. HALPERN (N.) et CORTEGGIANI (E.). — Etude comparative de la destruction de l'acétylcholine par divers organes de cobaye, de grenouille et d'escargot. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 119, p. 1049.
158. HALPERN (B.-N.). — Recherches sur des esters d'amino-alcools doués de propriétés spasmolytiques. — *Arch. Intern. Pharm. et Ther.* 1938, 39, p. 149.
159. HANDOVSKY (H.) et FARBER (S.). — Influence du pH sur la diffusion de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 123, p. 121.
160. HAZARD (R.) et MERCIER (F.). — Sur l'action cardiovasculaire de l'acétylcholine chez le chien atropinisé. — *C. R. Soc. Biol.* 1928, 99, p. 696.
161. HAZARD (R.). — Potassium et acétylcholine. — Différenciation par la spartéine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 1.105.

162. HAZARD (R.) et WURMSER (L.). — Magnésium et acétylcholine. — Différenciation par le magnésium des effets de l'ion potassium de ceux de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 1.424.
163. HAZARD (R.) et CHEYMOL (J.). — Action de l'ion calcium sur les effets muscariniques et nicotiniques de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 571.
164. HEESCH (O.). — Ueber eine vereinfachte Cholinbestimmung im Blut. — *Pflüg. Arch.* 1925, 209, p. 779.
165. HENDERSON (V.-E.) et RÖPKE (M.-H.). — Rôle de l'acétylcholine sur le mécanisme contractile de la vessie et les ganglions parasympathiques. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1934, 51, p. 97.
166. HENDERSON and WILSON. — Intraventricular injection of acetylcholine and eserine in man. — *Quart. Journ. of. exp. Physiol.* 1936, 26, p. 83.
167. HENNEQUIN (L.) et FRANCK (C.). — Etude sur l'intestin isolé du lapin de l'efficacité de l'adrénaline et de l'acétylcholine après administration de vagotonine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 352.
168. HERMANN (H.) et MORIN (G.). — Sur les effets cardiovasculaires périphériques de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 123, p. 600.
169. HERMANN (H.), JOURDAN (F.), MORIN (G.) et VIAL (J.). — De l'influence de l'atropinisation sur les propriétés adrénalino-sécrétoires de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 171.
170. HERMANN (H.), JOURDAN (F.), MORIN (G.), VIAL (J.). — L'ésérine intensifie l'action adrénalino-sécrétrice de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 317.
171. HERMANN (H.), JOURDAN (F.), MORIN (G.) et VIAL (J.). — Etude des propriétés adrénalino-sécrétrices de l'acétylcholine. Relation d'expériences effectuées à l'aide de la technique du « chien sans moelle ». — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1937, 57, p. 403.
172. HERMANN (H.). — Esérine et adrénaline-sécrétion. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 617.
173. HERMANN (H.), JOURDAN (F.), MORIN (G.) et VIAL (J.). — Esérine et adrénaline-sécrétion potassique. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 613.
174. HEYMANS (C.). — Le bleu de méthylène antagoniste des excitants parasympathiques. — *C. R. Soc. Biol.* 1922, 2, p. 396.
175. HEYMANS (C.). — Influence des ions et de quelques substances pharmacodynamiques sur le cœur d'*Aphysia limacina*. — *Arch. Int. Pharm. et Ther.* 1924, 25, p. 337.
176. HOUSSAY (B.) et ORIAS (O.). — Action de l'acétylcholine sur les bronches. — *Rev. Soc. Arg. Biol.* 1934, 10, p. 155.

177. HOUSSAY (B.-A.), FOGLIA (V.-G.) et FUSTINONI (O.). — Motricité et absorption gastro-intestinale pendant l'asthénie hypophysaire ou surrénale du crapaud. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 627.
178. HUESER (E.-F.). — Modifications de l'action de quelques médicaments cardiaques par l'aconitine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1937, 187, p. 541.
179. HUNT (R.) et TAVEAU (de). — On the physiological action of certain choline derivatives and news methods for detecting choline. — *Brit. Med. Journ.* 1906, 2, p. 1,788.
180. HUNT (R.). — A physiological test for choline and source of its applications. — *Journ. of. Pharmac. and exp. Therap.* 1915, 7, p. 310.
181. HUNT (R.). — Vasodilator reactions. — *Amer. Journ. of Physiol.* 1918, 45, p. 197.
182. INGAND-WRIGHT. — The curariform action of quaternary ammonium salts. — *Proc. Roy. Soc. London* 1932, 109, p. 337.
183. JOURDAN (F.) et VIAL (J.). — Influence de l'acétylcholine sur la glycémie du chien décapsulé. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1.111.
184. JULLIEN (A.) et MORIN (G.). — Action comparée de l'atropine et de l'acétylcholine sur le ventricule isolé de l'escargot et du murex. — *C. R. Soc. Biol.* 1931, 106, p. 187.
185. JULLIEN (A.). — Action de l'atropine et de l'acétylcholine sur le cœur de l'huître et, plus généralement, action de ces deux substances sur le cœur des mollusques. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 119, p. 603.
186. JULLIEN (A.). — De l'action de certains poisons sur le cœur de l'huître et des mollusques en général. — *Journ. Physiol. et Pathol. Gén.* 1936, 34, p. 774.
187. JULLIEN (A.). — De l'automatisme des lambeaux cardiaques et des rapports entre la structure et les fonctions du cœur chez *Aplysia fasciata*. — *Arch. Int. Physiol.* 1937, 45, p. 189.
188. JULLIEN (A.) et VINCENT (D.). — Sur l'action de l'acétylcholine sur le cœur des mollusques. L'antagonisme curare-acétylcholine. — *C. R. Acad. Sc.* 1938, 206, p. 209.
189. JULLIEN (A.), VINCENT (D.), BOUCHET (M.) et VUILLET (M.). — Observation sur l'acétylcholine et la cholinestérase chez les mollusques. — *Ann. Physiol.* 1938, 14, p. 567.
190. JULLIEN (A.), VINCENT (D.), VUILLET (M.) et BOUCHET (M.). — Contribution à l'étude de l'automatisme cardiaque chez les mollusques. L'action de mimétiques et de drogues sur le cœur d'*Helix pomatia*. — *Journ. Physiol. et Path. Gén.* 1939, 37, p. 562.
191. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Inhibition de l'hydrolyse de l'acétylcholine par le sérum. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 1596.

192. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Sur l'hydrolyse diastasique de l'acétylcholine par le sérum. — *C. R. Ac. Sc.* 1936, 202, p. 781.
193. KAHANE (E.). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. L'acétylcholine du sang. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 479.
194. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Caractérisation et dosage de l'acétylcholine dans les substances biologiques. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 505.
195. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Action du sang sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 529.
196. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Action des muscles de sangsue et de grenouille sur quelques ammoniums quaternaires à fonction ester. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1937, 19, p. 976.
197. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Influence de quelques agents anti-estérasiqes sur l'activité pharmacodynamique de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 252.
198. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Sur le mécanisme de la sensibilisation à l'acétylcholine. — *C. R. Acad. Sc.* 1937, 204, p. 1.752.
199. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Sur le rôle de l'action antiestérasique dans le mécanisme de la sensibilisation à l'acétylcholine. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1937, 57, p. 467.
200. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Sur la possibilité de doser dans le plasma l'acétylcholine libre du sang. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 10.
201. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Biochimie de la choline et de ses dérivés. — VI. Dosages biologiques. — *Actualités Scientifiques et Industrielles*, Hermann édit., Paris, 1938.
202. KAHANE (E.) et LÉVY (J.). — Influence de la morphine sur la contraction du muscle de sangsue par les dérivés de la choline. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 309.
203. KAHLSON (G.). — Zum biologischen Nachweis von Cholin und Acetylcholin. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1933, 169, p. 34.
204. KAHLSON (G.). — Extraktion und Wertbestimmung des freien Cholins. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1934, 175, p. 189.
205. KAHLSON (G.). — Nachweis und Vorkommen des preformierten Acetylcholins in Blut und Geweben. — *Arch. f. exp. Path.* 1934, 175, p. 198.
206. KAHLSON (G.) et UVNAS (B.). — Contribution à la théorie de la sensibilisation pour l'acétylcholine, en même temps un rapport sur une augmentation de l'excitabilité par le fluorure. — *Skandin. Arch. Physiol.* 1935, 72, p. 215.

207. KARASCK (F.). — Influence de la lécithine et des corps tensio-actifs sur l'activité des substances vagomimétiques. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 120, p. 922.
208. KASWIN (A.). — Action inhibitrice des ammoniums quaternaires sur l'activité de la cholinestérase du sérum sanguin. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 859.
209. KATE (G.) et SCHWARTZ (A.). — De l'influence de l'adrénaline sur les réactions des vaisseaux de l'oreille isolée du lapin à l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 116, p. 1.410.
210. KATZ (L.-N.), LINDER (E.), WEINSTEIN (W.), ABRAMSON (D.-I.) et JOCHIM (K.). — Effets de diverses drogues sur la circulation coronaire du cœur isolé et énérvé de chien et de chat. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1935, 59, p. 399.
211. KIRCHHOFF (G.). — La réaction des muscles à l'acétylcholine et l'entraînement. — *Arch. ges. Physiol.* 1937, 238, p. 623.
212. KLEE (Ph.) et PETROPULIADES (S.). — Bedingungen und Menze der Cholinausscheidung im Harn. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1928, 137, p. 129.
213. KOSCHTOJANZ (C.-S.). — De la cholinestérase chez les Invertébrés. — *Ukrainian Bioch. Journ.* 1936, 9, p. 665.
214. KOHLER (D.) et LÉVY (J.). — Adréralino-sécrétion et ésérine. Influence de l'ésérine sur les propriétés excito-ganglionnaires de quelques substances. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 405.
215. KOPANYI (Th.), LINEGAR (C.-R.) et DILLE (G.-M.). — Sur de nouvelles propriétés pharmacodynamiques de la physostigmine. — *Proc. Soc. exp. Biol.* 1933, 33, p. 438.
216. KOPANYI (Th.); HERWICK (R.-P.) et LINEGAR. — Action de la physostigmine sur les ganglions autonomes chez le lapin. — *Proc. Soc. exp. Biol.* 1936, 35, p. 369.
217. KRAUT (H.), FREY (E.-K.) et WERLE (E.). — Der Nachweis eines Kreislauf hormons in der Pankreadrüse. — *Ztschr. Physiol. Chem.* 1930, 189, p. 97.
218. KRAUT (H.), FREY (E.-K.) et WERLE (E.). — Ueber die Inaktivierung des Kallicreins. — *Ztschr. Physiol. Chem.* 1930, 192, p. 1.
219. KRUTA (V.). — L'étude de la fatigue du muscle isolé par rapport à l'effet possible de l'acétylcholine libérée pendant l'excitation du nerf. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 757.
220. KUHN (H.) et SURLS (D.). — Action de divers membres de la série de la morphine et de l'émétine sur la choline estérase du cerveau. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1938, 57, p. 88.
221. LA BARRE (J.) et HARTVOG (F.). — De l'action inhibitrice des sels magnétiques sur la contraction intestinale expérimentale. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 105, p. 39.

222. LABBÉ (M.) et RUBINSTEIN (M.). — Action exercée par l'acétylcholine sur les échanges respiratoires. — *C. R. Soc. Biol.* 1933, 112, p. 1.040.
223. LANARI (A.) et ORIAS (O.). — Action de l'acétylcholine et de l'atropine sur le mécanisme neuro-musculaire de la membrane nictitante. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 586.
224. LANARI (A.). — Les transmissores quimicos. — *Thèse Buenos-Aires* 1936.
225. LANDS (A.-M.). — Action tonotrope de l'acétylcholine sur l'oreillette isolée de *Pseudemys elegans*. — *Proc. Soc. exp. Biol.* 1938, p. 48.
226. LANGE (F.) et DONOMAE (I.). — Recherches sur les substances actives sur la circulation à l'aide d'une nouvelle préparation artérielle. Résultats sur les artères de l'animal. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1934, 175, p. 416.
227. LAPICQUE (L.) et LAUGIER (H.). — Accroissement de l'efficacité de l'excitation électrique par son interruption momentanée. — *C. R. Soc. Biol.* 1927, 96, p. 616.
228. LAPICQUE (L. et M.). — Durée de contraction élémentaire du muscle dorsal de sangsue. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, p. 600.
229. LAPICQUE (L.). — De quelques hypothèses abusives concernant le rôle fonctionnel de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 3.
230. LAUBENDER (W.) et KOLB (H.). — Dépendance de l'action contracturante musculaire de la coniine, de l'acétylcholine et de la nicotine et de la température de réaction. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1936, 182, p. 401.
231. LE HEUX (J.-W.). — Cholins als Hormon der Darmbewegung. *Pflüg. Arch.* 1919, 173, p. 8, et 1919, 179, p. 177.
232. LE HEUX (J.-W.). — Physiologische Cholinbestimmung. — *Abderhalden Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden* 1927, 3, p. 643.
233. LEMATTE (L.), BOINET (G.) et KAHANE (E. et M.). — Dosage de la choline et de l'acétylcholine. Détermination de l'indice de décomposition de l'acétylcholine. — *Journ. Pharm. et Chim.* 1931, 13, p. 371.
234. LÉVY (J.). — Poisons du système nerveux autonome. — *Paris-Médical* 1935, 20 juillet, p. 67.
235. LÉVY (J.) et OLSZYCKA (L.). — Recherches sur la biochimie de la choline et de ses dérivés. Technique de dosage biologique de l'acétylcholine. — *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1936, 18, p. 490.
236. LÉVY (J.) et MICHEL (E.). — Différences de comportement de divers fragments d'intestin isolé vis-à-vis de quelques substances médicamenteuses. — *Journ. Physiol. Path. gén.* 1937, 35, p. 389.

237. LINEGAR (Ch.-R.), HERWICK (R.-P.) et KOPANYI (Th.). — Action de la nicotine sur l'effet vaso-presseur de l'acétylcholine en présence de la physostigmine. — *Proc. Soc. expér. Biol.* 1936, 35, p. 370.
238. LOEPER (M.), VILLARET (M.), JUSTIN-BESANCON (L.), LEMAIRE (A.) et CACHERA (R.). — Recherches sur les dérivés de la choline. Sur l'action hypotensive prolongée des dérivés choliniques chez le chien yohimbinisé. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 104, p. 1.203.
239. LOEPER (M.) et LEMAIRE (A.). — Prolongation par la yohimbine de l'action hypotensive de l'acétylcholine chez l'animal. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 105, p. 259.
240. LOEWI (O.). — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung. — *Arch. f. Physiol.* 1921, 189, p. 239, et 1922, 193, p. 201.
241. LOEWI (O.) und NAVRATIL (S.). — Ueber humorale Uebertragbarkeit der Herznervenwirkung ; ueber das Schicksal des Vagustoffes. — *Arch. f. Physiol.* 1926, 214, p. 678.
242. LOEWI (O.) und NAVRATIL (E.). — Ueber den Mechanismus der Vaguswirkung von Physostigmin und Ergotamin. — *Arch. f. Physiol.* 1926, 214, p. 689.
243. LOMBROSO (U.) et BONSIGNORE (A.). — Recherches sur la physiologie et la pharmacologie du système nerveux autonome. Action hypertensive de l'acétylcholine chez l'animal atropiné. — *Arch. Soc. Biol.* 1937, 23, p. 22.
244. LUCO (J.-V.). — La sensibilisation des structures inhibées par énervation. — *Amer. J. Physiol.* 1937, 120, p. 179.
245. MANNING (G.-W.), LANG (J.) et HALL (C.-E.). — Effets *in vivo* de l'ésérine sur le système choline-estérase. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1937, 61, p. 350.
246. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Action de l'acétylcholine sur le muscle strié et son antagonisme avec l'adrénaline. — *C. R. Soc. Biol.* 1936, 122, p. 1.265.
247. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — La cholinestérase dans le muscle volontaire de grenouille. — *J. Physiol.* 1937, 89, p. 359.
248. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le muscle strié du chat. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 446.
249. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le muscle strié. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 942.
250. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Sur la répartition de la cholinestérase dans le muscle courrier de la grenouille. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 41.
251. MARNAY (A.), MINZ (B.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans les terminaisons nerveuses. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 43.

252. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le muscle de lézard. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 489.
253. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le muscle de homard. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 1.005.
254. MARNAY (A.). — Action de l'acétylcholine sur le muscle isolé. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, p. 1.007.
255. MARNAY (A.) et NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le muscle strié après dégénérescence du nerf moteur. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 785.
256. MARTINI (V.). — Action sur le cœur du cyanure, de la guanine et de l'acétylcholine à divers pH. — *Arch. Int. Pharm. et Ther.* 1932, 43, p. 63.
257. MASAWO ISHISAWA. — Contribution à l'étude des fibres musculaires de la sangsue. — *C. R. Soc. Biol.* 1926, 96, p. 177.
258. MATTHES (K.). — Action du sang sur l'acétylcholine. — *J. of Physiol.* 1930, 70, p. 338.
259. MELVILLE (K.-I.). — Effets bronchiolaires de l'acétylcholine après atropine et ergotamine. — *Arch. Internat. et Ther.* 1938, 58, p. 139.
260. MERCIER (F.) et RAYMOND-HAMET. — Influence de la spartéine sur l'action de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1931, 107, p. 1.119.
261. MERKLEN (L.), FRANCK (C.) et GRANDPIERRE (R.). — Vagotonine et efficacité cardiomodératrice de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 1.562.
262. MILLER. — The local action of eserine on the central nervous system. — *Journ. of Physiol.* 1937, 91, p. 212.
263. MINZ (B.). — Recherches pharmacologiques sur la sangsue, méthode de caractérisation biologique de l'acétylcholine en présence d'autres substances analogues pharmacologiquement actives. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1932, 168, p. 292.
264. MINZ (B.) et AGID (R.). — *C. R. Acad. Sc.* 1937, 205, p. 576.
265. MINZ (B.). — Sur la libération de la vitamine B₁ sur le tronc isolé du nerf pneumogastrique soumis à l'excitation électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 1.251.
266. MINZ (B.). — Le rôle de la vitamine B dans la régulation humorale du système nerveux. — *Presse Médicale*, 1938, p. 1.406.
267. MOISSET de ESPANES (E.) et MARTINEZ (C.-A.). — Comportement du cœur soumis à une perfusion continue de solutions d'acétylcholine de concentrations fixes ou croissantes. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 673.
268. MORIN (G.) et VIAL (J.). — Sur le mécanisme du renforcement par l'yohimbine de l'action hypotensive de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 192.

269. MORISON (R.-S.) et ACHESON (G.-H.). — Etude quantitative des effets de l'acétylcholine et de l'adrénaline sur la membrane nictitante. — *Amer. J. Physiol.* 1938, 121, p. 149.
270. MOTT (F.-W.) et HALLIBURTON (W.-D.). — The physiological action of choline an, neurine. — *Phil. Trans.* 1899, 191, p. 211.
271. NACHMANSOHN (D.). — La transmission de l'influx nerveux dans le système nerveux central. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 126, p. 783.
272. NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le tissu nerveux. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 127, p. 894.
273. NACHMANSOHN (D.). — Distribution de la cholinestérase dans le cerveau humain. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 24.
274. NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans les fibres nerveuses. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 516.
275. NACHMANSOHN (D.). — Changements de la cholinestérase dans le muscle strié. — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 128, p. 599.
276. NACHMANSOHN (D.). — Cholinestérase dans le système nerveux central. — 16^e Congrès Int. Physiol. 1938, Zürich.
277. NACHMANSOHN (D.). — *C. R. Soc. Biol.* 1938, 129, p. 941.
278. NACHMANSOHN (D.) et LEDERER (E.). — Sur quelques propriétés chimiques de la cholinestérase. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 321.
279. NACHMANSOHN (D.). — Sur l'inhibition de la cholinestérase. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 1.065.
280. NECHELES (H.), FRANCK (R.), KAYE (W.) et ROSENMAN (E.). — Effets de l'acétylcholine sur la circulation sanguine à travers l'estomac et les pattes du rat. — *Amer. J. Physiol.* 1936, 114, p. 695.
281. NOCHIMOWSKI (Clara). — Action sur l'intestin isolé du lapin d'une substance sensibilisant à l'acétylcholine, formée dans le tronc du pneumogastrique lors d'une excitation électrique. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 119, p. 943.
282. OURY (A.). — Modifications des effets de l'acétylcholine sur l'oreille droite de la tortue en fonction du pH. — *Arch. Int. Physiol.* 1936, 44, p. 121.
283. OURY (A.). — Modifications par la caféine des effets de l'acétylcholine sur le cœur de tortue et le muscle strié de grenouille. — *Arch. Int. Physiol.* 1937, 44, p. 488.
284. OURY (A.) et BACQ (Z.-M.). — Ester instable de la choline sans cholinestérase dans la pomme de terre et un champignon. — *Arch. Int. Physiol.* 1938, 47, p. 92.
285. PAGE (I.-H.) et SCHMIDT (E.). — Das Schicksal des Cholins im Organismus. — *Ztschr. Physiol. Chem.* 1930, 191, p. 262.

286. PINES (Ignacy). — L'action de l'acétylcholine et du vague sur le cœur après administration de quelques poisons agissant sur le vague cardiaque. — *Arch. Internat. Pharm. et Ther.* 1934, 49, p. 91.
287. PLATTNER (F.), GALEHR (O.) und KODERA. — Ueber das Schicksal des Acetylcholins im Blut-Pflüg. — *Arch. Ges. Phys.* 1928, 219, p. 678.
288. PLATTNER (F.) und GALEHR (O.). — Ueber das Schicksal des Acetylcholins im Blute. VI. Der Einfluss verschiedener Narkotica auf die Spaltung des Acetylchölin. — *Arch. f. Physiol.* 1928, 220, p. 606.
289. PLATTNER (F.) und HINTNER (H.). — Die Spaltung von Acetylcholin durch Organextrakte und Körperflüssigkeiten. — *Arch. f. Physiol.* 1930, 225, p. 19.
290. PLATTNER (F.). — Contribution à la question du point d'action de l'acétylcholine dans le cœur. La nicotine entrave-t-elle l'action de l'acétylcholine sur le cœur. — *Arch. ges. Physiol.* 1935, 236, p. 226.
291. PLUM (K.). — Sur l'action spasmodique des alcaloïdes de l'opium. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1937, 184, p. 126.
292. PUCCINELLI (E.). — Modifications du débit de la veine fémorale par injections d'acétylcholine chez le chien normal et atropiné. — *Riv. Pat. sper.* 1934, 12, p. 50.
293. QUASTEL (J.-H.) et TENNENBAUM (M.). — Action de la morphine et de ses dérivés sur les contractions du muscle de sangsue dues à l'acétylcholine, à la choline et à la nicotine. — *J. Pharm. exp. Ther.* 1937, 60, p. 228.
294. RAVENTOS. — *Quart. Journ. of Physiol.* 1937, 27, p. 99.
295. RAYMOND-HAMET. — Sur l'action nicotinique de l'hordenine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1930, 158, p. 187.
296. RAYMOND-HAMET. — L'antagonisme de l'acétylcholine et de l'atropine. — *Revue de Pharm. et Thérapie* 1930, 2, p. 48.
297. RAYMOND-HAMET. — Sur l'hypersécrétion adrénalique provoquée par l'acétylcholine chez l'animal atropiné. — *C. R. Soc. Biol.* 1931, 107, p. 36.
298. RAYMOND-HAMET. — Sur l'antagonisme de la pilocarpine et de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1934, 115, p. 1.076.
299. RAYMOND-HAMET. — Sur une propriété physiologique nouvelle de la colchicine. — *C. R. Soc. Biol.* 1935, 118, p. 1.292.
300. RAYMOND-HAMET. — Effets de la mitrinermine sur l'intestin, l'utérus et la vésicule séminale en survie. — *Arch. Internat. Pharm. et Thérapie* 1937, 55, p. 303.
301. REGINSTER (A.). — Recherches sur le rôle du potassium dans les phénomènes d'excitation. — *Arch. Int. Physiol.* 1938, 47, p. 24.

302. RIESSER (O.). — Ueber die durch Azetylcholin bewirkte Erregungskontraktur des Froschmuskels und ihre antagonistische Beeinflussung durch Atropin, Novokain, und Kurare. — *Arch. fr. exp. Path.* 1931, 91, p. 342.
303. RIESSER (O.). — Beiträge zur Kenntnis des Azetylcholins. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1931, 161, p. 34.
304. ROEPKE (M.-H.). — Etude de la choline estérase. — *J. Pharm. exp. Thér.* 1937, 59, p. 264.
305. ROMAN (W.). — Eine chemische Methode zur quantitativen Bestimmung des Cholins und einige physikalisch chemische Daten des Cholins und seiner Salze. — *Biochem. Ztschr.* 1930, 219, p. 218.
306. ROSENBLUETH (A.). — Action de certaines drogues sur la membrane nictitante. — *Amer. J. Physiol.* 1932, 100, p. 443.
307. ROSENBLUETH (A.), LINDSLEY (D.-S.) et MORISON (R.-S.). — Etude de quelques substances décuratisantes. — *Amer. J. Physiol.* 1936, 115, p. 53.
308. ROSENBLUETH (A.) et LUCO (J.-V.). — Etude du muscle du squelette de mammifère énervé. — *Amer. J. Physiol.* 1937, 120, p. 781.
309. ROSS (J.-F.). — Effet du 933 F et de la yohimbine sur l'action de certaines drogues et des ions sur la membrane nictitante. — *Amer. J. Physiol.* 1936, 116, p. 574.
310. RYDIN (Hakan). — Influence de l'éther et du chloroforme sur l'action exercée par l'acétylcholine et la pilocarpine sur l'intestin. — *C. R. Soc. Biol.* 1925, 92, p. 654.
311. RYDIN (Hakan). — Influence de l'hydrate de chloral et de la chloralamide sur l'action exercée par les excitants parasymphathiques sur l'intestin. — *C. R. Soc. Biol.* 1925, 92, p. 658.
312. RYDIN (Hakan). — Influence de l'isopral et du chlorétone sur l'action motrice des excitants parasymphathiques sur l'intestin. — *C. R. Soc. Biol.* 1925, 92, p. 652.
313. RYDIN (Hakan). — Influence de la nicotine sur l'action exercée par l'adrénaline et l'acétylcholine sur l'utérus de lapine. — *C. R. Soc. Biol.* 1925, 93, p. 1.193.
314. SACHS (James) et MCK IVIE (J.). — Effet de l'acide sur l'iléon de cobaye contracté par l'acétylcholine et par l'histamine. — *J. Pharm. exp. Thér.* 1936, 57, p. 253.
315. SACHS (A.). — Sur l'action du bleu de méthylène sur les lambeaux auriculaires battants. — *Arch. Internat. Pharm. et Thér.* 1937, 55, p. 376.
316. SANTENSSON (C.-G.). — L'action de l'alcool et de certains autres poisons sur l'inhibition du cœur de grenouille. — *Skand. Arch. Phys.* 1934, 69, p. 255.

317. SAPEIKA (Norman). — Réponse du tube digestif des Batraciens aux drogues autonomes : *Xenopus laevis*, crapaud de l'Afrique du Sud,, et acétylcholine. — *Arch. Internat. Pharm. et Thér.* 1934, 59, p. 115.
318. SCHEINER (H.). — Les effets vasculaires de l'acétylcholine administrée par perfusion intraveineuse continue chez le chien et chez le chat. — Influence de l'ésérine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 548.
319. SCHEINER (H.). — Le muscle droit de l'abdomen de la grenouille, indicateur graphique de l'hydrolise cholinestérasique de l'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 748.
320. SCHEINER (H.). — Une nouvelle méthode de détermination du titre cholinestérasique d'un sérum ou d'un extrait biologique. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 752.
321. SCHWEITZER (A.) et WRIGHT (Samson). — Action de l'ésérine et de ses dérivés et de l'acétylcholine sur le système nerveux central. — *J. Physiol.* 1937, 89, p. 165.
322. SCHWEITZER (A.) et WRIGHT (S.). — L'action antistrychnique de l'acétylcholine, de la prostigmine et des substances voisines et de l'excitation vagale centrale. — *J. Physiol.* 1937, 90, p. 310.
323. SEGERS (M.). — La modification de la réaction du cœur à l'excitation du vague et à l'acétylcholine en présence de bicarbonate de sodium. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 131, p. 1.294.
324. SIMONART (A.). — Contribution à l'étude de l'hydrolyse de l'acétylcholine par voie fermentaire. — *Revue Belge des Sciences médicales* 1931, 3, p. 1.
325. SIMONART (A.). — On the action of certain derivatives of cholin. — *J. Pharm. exp. Thér.* 1932, 46, p. 157.
326. SIMONART (A.). — Contribution à l'étude des propriétés pharmacologiques des dérivés de la choline. — *Revue Belge Sc. Méd.* 1933, 5, p. 73.
327. SIMONART (A.) et SIMONART (E.-F.). — L'acétylcholine et le muscle strié normal de mammifère. — *Arch. Internat. Pharm. et Thér.* 1935, 49, p. 302.
328. SIMONART (A.). — Etude de l'action de l'acétylcholine sur le muscle strié de mammifère. — *Arch. Internat. Pharm. et Thér.* 1935, 51, p. 381.
329. SIMONSON (E.). — Contribution à l'étude de l'action de l'acétylcholine sur le muscle de grenouille. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1923, 95, p. 284.
330. SMITH (F.-M.), MILLER (G.-H.) et GRABER (V.-C.). — Action de l'adrénaliné et de l'acétylcholine sur les artères coronaires du lapin. — *Amer. J. Physiol.* 1926, 77, p. 17.

331. STARR (I.). — Note sur l'antagonisme entre l'action cardiaque de l'acétyl-beta-méthylcholine et de l'acétylcholine, et celle de la quindine. — *J. Pharm. exp. Théor.* 1936, 56, p. 77.
332. STEDMAN (E.) et STEDMAN (El.). — Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action. III et IV. The inhibitory action of certain synthetic urethanes on the activity of liver esterase. — *Bioch. Journ.* 1931, 25, p. 1.147, et 1932, 25, p. 1.214.
333. STEDMAN (Ed. et El.) et EASSON (L.-H.). — Cholinestérase An enzyme présent in the blood serum of the horse. — *Bioch. Journ.* 1932, 26, p. 2.056.
334. STRACK (N.) WÖRDEHOFF (P.) et SCHWANEBERG (E.). — Ueber die Bedeutung des Carnitins in Muskel. — *Ztschr. Physiol. Chem.* 1936, 238, p. 183.
335. STRACK (E.) et FÖRSTERLING (K.). — Ueber die biologische Wirkung des Carnitins und Acetylcarnitins. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1937, 185, p. 612.
336. STRAUB (W.). — Quantitative Untersuchungen über den Chemismus der Strophanthinwirkung. — *Biochem. Ztschr.* 1910, 28, p. 392.
337. STRAUB (W.) et STÉFANSON (K.). — Conditions d'action de l'acétylcholine sur l'intestin. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1937, 185, p. 435.
338. STUERCHLER (W.). — Recherches sur les processus d'excitation. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1936, 183, p. 411.
339. TESCHENDORF. — Beiträge zur Physiologie und Pharmakologie der Blutelgelmuskulatur. — *Arch. f. Physiol.* 1921, 192, p. 135.
340. TIFFENEAU (M.) et SCHEINER (H.). — Etude du mécanisme de la cessation des effets de l'acétylcholine sur les fibres lisses malgré un contact prolongé. — Probabilité d'un phénomène d'adaptation. — *C. R. Soc. Biol.* 1939, 130, p. 627.
341. TOURNADE (A.), SARROUY (Ch.) et CHEVILLOT (M.). — Signification des « effets nicotiniques » qu'engendre l'acétylcholine chez le chien atropiné décapsulé. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 203.
342. TOURNADE (A.) et CHEVILLOT (M.). — Influence de l'ésérine sur l'adrénalino-sécrétion déclanchée par l'excitation du nerf splanchnique et par l'injection intraveineuse d'acétylcholine. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 565.
343. UNGAR (G.). — Les substances histaminiques et la transmission chimique de l'influx nerveux. — Hermann, édit., Paris, 1937.
344. VAHLQUIST (B.). — Sur l'activité estérasique du plasma humain. — *Skand. Arch. Physiol.* 1935, 72, p. 132.

345. VILLARET (M.), SCHIFF-WERTHEIMER (Mme), JUSTIN-BESANCON (L.), CACHERA (R.) et BENECH. — Recherches physiologiques sur les dérivés de la choline. Action réciproque de l'adrénaline et de l'acétylcholine sur l'artère rétinienne. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 580.
346. VILLARET (M.), JUSTIN-BESANCON (L.) et CACHERA (R.). — Recherches sur les dérivés de la choline. L'apnée cholinique. Action de l'adrénaline, de l'atropine et de la lobéline. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 771.
347. VILLARET (M.), JUSTIN-BESANCON (L.) et CACHERA (R.). — Recherches sur les dérivés de la choline. Sur le mécanisme de la polypnée provoquée par l'injection intraveineuse de la choline et de ses dérivés. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 163, p. 772.
348. VILLARET (M.), JUSTIN-BESANCON (L.) et CACHERA (R.). — Recherches sur les dérivés de la choline, la syncope ergotamino-cholinique. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 879.
349. VILLARET (M.), SCHIFF-WERTHEIMER (Mme), JUSTIN-BESANCON (L.) et CACHERA (R.). — Recherches sur les dérivés de la choline. Sur l'indépendance relative de la dilatation de l'artère rétinienne et de l'hypotension artérielle déterminées par l'administration des dérivés choliniques. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 104, p. 1244.
350. VILLARET (M.), PASTEUR VALLERY-RADOT, JUSTIN-BESANCON (L.) et CLAUDE (F.). — Crises asthmatiformes provoquées par l'administration de vagomimétiques après irritation pulmonaire. — *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, p. 1308.
351. VINCENT (D.). — L'acétylcholine et son rôle dans l'organisme animal. — *Thèse doct. ès Sc. Lyon*, 1938.
352. VOSS (O.). — Modification de l'action de l'acétylcholine. — *Arch. f. exp. Path. et Pharm.* 1926, 116, p. 367.
353. WACHHOLDER (K.) und MATTHIAS (F.). — Ein fluss verschieden zusammengesetzter Ringerlösung (Sommer und Winter-ringer) auf das Kontrakturvermögen von Freschmuskeln. — *Pflüger's. Arch.* 1933, 232, p. 159.
354. WEBSTER (M.-D.). — The qualitative action of acetylcholine and histamine on the guinea pig uterus. — *Journ. Physiol.*, 1935, 53, p. 340.
355. WEPER (P.). — Zur Physiologie des Carnitins und des Acetylcarnitins. — *Biochem. Ztschr.* 1936, 287, p. 424.
356. WODON (J.-L.). — De l'abolition par les sels magnésiques de la contracture utérine obtenue par divers agents tétanisants. — *C. R. Soc. Biol.* 1930, 103, p. 930.
357. WYBAUW (L.). — Contribution à l'étude du rôle vasomoteur et trophique des nerfs sensitifs : mécanisme périphérique de la vasodilatation antidromique ; sa médiation chimique. — *Arch. Int. Physiol.* 1938, 46, p. 324.

358. YOUNG (J.-Z.). — L'innervation et les réactions aux médicaments des poissons téléostéens. — *Proc. Roy. Soc.* 1936, 120 série B 818, p. 303.
359. ZINNITZ (F.). — Acétylcholine et éserine. — *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 1936, 182, p. 340.
360. ZIPF (K.). — Die Kreislaufwirkung des Frühgiftes. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1930, 157, p. 95.
361. ZIPF (K.). — Die Chemische Natur des Frühgiftes. — *Arch. exp. Path. Pharm.* 1930, 157, p. 97.
-

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
INTRODUCTION	1

PREMIÈRE PARTIE

LES METHODES DE DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ACÉTYLCHOLINE

Pression sanguine	7
Cœur isolé	9
Intestin isolé	11
Utérus isolé	13
Muscle gastrocnémien	14
Muscle <i>rectus abdominalis</i>	15
Muscle dorsal de sangsue	16

DEUXIÈME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LE DOSAGE BIOLOGIQUE DE L'ACÉTYLCHOLINE

CHAPITRE I

La sensibilité de la préparation de sangsue à d'autres drogues que l'acétylcholine	19
Technique	21
Facteurs physiques	22
Facteurs physico-chimiques	23
Discussion	30
Remarques	31
Facteurs biochimiques	35
Conclusions	39

CHAPITRE II

	Pages
La sensibilisation de la préparation de sangsue par d'autres drogues que l'ésérine	41
Substances favorisantes	43
Substances inhibitrices	45
Actions inhibitrice et sensibilisante des alcaloïdes dérivés de la morphine	48
Recherches sur l'action sensibilisante	48
Recherches sur l'action antagoniste	50
Conclusions	53

CHAPITRE III

Un sensibilisateur puissant de l'acétylcholine : la dihydro-oxycodéine	55
Constitution chimique	55
Toxicité	56
Organes isolés	57
Muscle de sangsue	57
a) Doses sensibilisatrices	57
b) Relation entre la dose de sensibilisateur et le degré de sensibilisation	59
c) Fixation du sensibilisateur	60
d) Comparaison des pouvoirs sensibilisateurs ...	63
e) Synergie ésérine-étréodal	63
Conclusions	64

CHAPITRE IV

Le mécanisme de l'action sensibilisante de la dihydro-oxycodéine	65
Le mécanisme de sensibilisation par l'ésérine	65
Le pouvoir anticholinestérasique de la dihydrooxy- codéine	73

Action favorisante de la dihydrooxycodéine, sur le muscle de sangsue, vis-à-vis d'autres substances que l'acétylcholine	78
a) Chlorure de potassium	78
b) Chlorure de baryum	79
c) Nicotine	79
d) Vétratine	79
Action favorisante de la dihydrooxycodéine, vis-à-vis de l'acétylcholine, sur d'autres réactifs que le muscle de sangsue	80
a) Muscle grand droit de grenouille	81
b) Cœur isolé de <i>Helix pomatia</i>	81
c) Intestin isolé de lapin	83
d) Tension artérielle	85
Conclusions	88
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	89
BIBLIOGRAPHIE	93
	Pages

IMPRIMERIE MODERNE, CLERMONT-FERRAND
